

# Chemo-enzymatische Synthese neuartiger Sialokonjugate

Vom Fachbereich Chemie  
der Technischen Universität Darmstadt  
zur Erlangung des akademischen Grades eines  
Doktor Ingenieurs

genehmigte  
Dissertation  
eingereicht von

Dipl.-Ing. Peter Unruh  
aus Karaganda (Kasachstan)

Berichterstatter: Prof. Dr. W.-D. Fessner

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Kolmar

Tag der Einreichung: 12.03.2007

Tag der mündlichen Prüfung: 23.04.2007

Darmstadt 11.03.2007

**D 17**



**Für Gott, meine Frau, Eltern und Geschwister**



Herrn Professor Dr. W.-D. Fessner danke ich für die interessante Themenstellung, der steten Bereitschaft zur Diskussion und den vielen nützlichen Anregungen, die zum Gedeihen dieser Arbeit beitrugen.

Herrn Professor Dr. Kolmar danke ich für die freundliche Übernahme der Mitberichterstattung.

Herrn Dr. S. Jennewein danke ich für die Zusammenarbeit, ohne die diese Arbeit nicht durchführbar wäre.

Ferner möchte ich den Mitarbeitern der Serviceabteilung, Frau K. Jungk, Herrn K. O. Runzheimer und Herrn Meusinger für die NMR-Spektroskopie danken.

Außerdem gilt mein Dank Herrn H.-W. Peter, Frau G. Windsor und Frau G. Streinbrecher.

Herr Dr. S. Peters danke ich für die Unterstützung bei der Korrektur des Manuskripts.

Zuletzt seien auch die Kollegen des Arbeitskreises erwähnt, besonders Herrn Dipl.-Ing. M. Adler und Dipl.-Ing. O. Ludwik für die ständige Hilfe beim Umgang mit Computern und deren Software. Weiterhin danke ich Dr. P. Grundmann, Dr. J. Schooren, Dr. A. Porzelle, Dipl.-Ing. N. Knispel, Frau F. Jäger, Frau N. He und Frau E. Heilig, die durch zahlreiche Hilfeleistungen und Diskussionen zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner lieben Frau Vera, meinen Eltern und Geschwistern für ihre Unterstützung bedanken und bei meinen Freunden, für ihre moralische Hilfe und Geduld mit mir.



<i>Abkürzungsverzeichnis</i> .....	III
------------------------------------	-----

<i>I. Einleitung</i> .....	I
----------------------------	---

1.1 Bedeutung der Kohlenhydrate .....	1
1.2 Die biologische Funktion der Kohlenhydrate.....	2
1.3 Sialinsäuren .....	10
1.3.1 Vorkommen, Bedeutung und Funktion .....	10
1.3.2 Enzymatische Synthese von Sialinsäuren.....	15
1.3.3 Chemische Synthese von Sialinsäuren .....	18
1.3.4 Synthese von Sialokonjugaten.....	20

<i>II. Zielsetzung</i> .....	23
------------------------------	----

<i>III Allgemeiner Teil</i> .....	26
-----------------------------------	----

3.1 Indium-vermittelte, wässrige Allylierung vom Barbier-Typ.....	26
3.1.1 Einleitung .....	26
3.1.2 Diastereoselektivität der Indium-vermittelten Allylierung .....	30
3.1.3 Indium-vermittelte Allylierung von Kohlenhydraten.....	32
3.1.4 Allylierung von Aldosen mit Allylbromid .....	32
3.1.5 Sialinsäure-Vorstufen durch Addition von Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat an Monosaccharide.....	40
3.1.6 Sialinsäure-Vorstufen durch Addition von Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat an Disaccharide .....	43
3.1.7 Sialinsäure-Vorstufe durch Addition von Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat an Chitobiose bzw. <i>epi</i> -Chitobiose.....	48
3.1.8 Allylierung von Aldosen mit Bromisopren .....	50
3.2 Desoxy-Zucker .....	53
3.2.1 Einleitung .....	53
3.2.2 Synthese höherer 2-Desoxy-Mono- und Disaccharide .....	54
3.2.3 Oxidation zu 2-Desoxy-glyconsäuren bzw. 2-Desoxy-glyconolactonen .....	64
3.2.4 Fischer-Glycosid-Synthese .....	69

3.2.4.1 Herstellung von Methyl-2-desoxyglycosiden .....	69
3.2.4.2 Herstellung von Benzyl-2-desoxyglycosiden .....	73
3.3 Chemische Synthese von KDN-Derivaten.....	77
3.3.1 Synthese von KDN-Derivaten aus Monosacchariden.....	77
3.3.2 Synthese von KDN-Derivaten aus Disacchariden .....	80
3.4 Enzymatischer Teil .....	83
3.4.1 Einleitung .....	83
3.4.2 Literaturübersicht zur Substrattoleranz von <i>N</i> -Acetylneuraminsäure-Aldolasen und - Lyasen.....	86
3.4.3 Literaturübersicht zur Substrattoleranz der CMP-Sialat-Synthetase .....	95
3.4.4 Synthese von <i>N</i> -modifizierten Mannosamin- und Mannose-Derivaten.....	99
3.4.5 Synthese von konjugationsfähigen Mannose-Derivaten durch [2+3]-Cyclo- addition.....	112
3.4.6 Enzymatische Synthesen mit der Neu5Ac-Lyase aus <i>N. meningitidis</i> .....	116
3.4.7 Enzymatische Synthesen mit der Neu5Ac-Aldolase .....	120
3.4.8 Enzymatische Synthesen mit der CMP-NeuAc Synthetase aus <i>N. meningitidis</i> ..	128
3.4.9 Synthese fluoreszenzmarkierter Sialinsäure-haltiger Trisaccharide .....	130
3.4.9.1 Chemoenzymatische Synthese von Akzeptorsubstraten.....	130
3.4.9.2 Synthese Acridon-gekoppelter Linkermoleküle .....	132
3.4.9.3 Synthese Triazol-haltiger Akzeptoren .....	133
3.4.9.4 Synthese Triazol-freier Akzeptoren .....	136
3.4.10 Enzymatischer Galactosyltransfer.....	139
3.4.11 Enzymatischer Sialyltransfer .....	142
3.4.12 Ausblick .....	148
3.4.13 Messung der Bindungsaffinität von Fluoreszenz-markierten Substraten .....	149
<i>IV Zusammenfassung .....</i>	<i>154</i>
<i>V Experimenteller Teil .....</i>	<i>159</i>
5.1 Allgemeine Vorbemerkungen .....	159
5.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften.....	164
5.3 Synthesen .....	171
<i>VI Literaturverzeichnis .....</i>	<i>447</i>



## Abkürzungsverzeichnis

AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
Abs.	Absolut
Ac	Acetyl
AcOH	Essigsäure
ADP	Adenosin-5'-diphosphat
Äq.	Äquivalent
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
ax	axial
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-
BTEAC	Benzyltriethylammoniumchlorid
BSA	Rinderserumalbumin (Bovine Serum Albumine)
CDP	Cytidin-5'-diphosphat
CMP	Cytidin-5'-monophosphat
CMP-Neu5Ac	Cytidin-5'-monophosphat- <i>N</i> -acetylneuraminsäure
CTP	Cytidin-5'-triphosphat
$\delta$	chemische Verschiebung
d	Dublett
d	Tag(e)
DC	Dünnschichtchromatographie
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (1,5-5)
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMS	Dimethylsulfid
DMSO	Dimethylsulfoxid
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia Coli</i>
EC	Enzyme Comission (einheitliche Kklassifizierung von Enzymen nach Enzymklassen und -nummern)
EtOAc	Essigester
EtOH	Ethanol
eq	äquatorial
Gal	Galactose

GalT	$\beta$ -1,4-Galactosyltransferase
ges.	gesättigt
Glc	Glucose
GlcNAc	<i>N</i> -Acetyl-D-glucosamin
GPC	Gelpermeationschromatographie
h	Stunde(n)
HPTLC	High Performance Thin Layer Chromatographie
<i>J</i>	Kopplungskonstante
KDN	3-Desoxy-D- <i>glycero</i> -D- <i>galacto</i> -2-nonulopyranulosonsäure
<i>K<sub>m</sub></i>	Michaelis-Menten-Konstante
konz.	Konzentriert
LacNAc	<i>N</i> -Acetyl-D-lactosamin
LDH	Lactat-Dehydrogenase
M	mol/L
m	Multiplett (Spektrenzuordnung)
<i>m/z</i>	Masse/Ladungszahl (Massenspektroskopie)
Man	Mannose
ManNAc	N-Acetylmannose
ManNH <sub>2</sub>	D-Mannosamin
min.	Minute
MeOH	Methanol
MS	Massenspektrum
<i>N. meningitidis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
NAD <sup>+</sup>	$\beta$ -Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (oxidierte Form)
NADH	$\beta$ -Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (reduzierte Form)
Neu5Ac	<i>N</i> -Acetylneuraminsäure
NeuA	<i>N</i> -Acetylneuraminsäure-Aldoase
NeuS	<i>N</i> -Acetylneuraminsäure-Synthase (-Lyase)
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Magnetische Kernresonanz)
OAc	Acetat
PEP	Phosphoenolpyruvat
PK	Pyruvatkinase
Pi	anorganisches Phosphat
PPi	anorganisches Pyrophosphat

$R_f$	Rückhaltefaktor (Dünnschichtchromatographie)
RP	reversed phase (Umkehrphase)
s	Singultett (Spektrenzuordnung)
SDS	Natriumdodecylsulfat
SiaT	Sialyltransferase ( $\alpha$ -2,3- oder $\alpha$ -2,6-)
SLe <sup>x</sup>	Sialyl-Lewis <sup>x</sup>
TBAHS	Tetrabutylammoniumhydrogensulfat
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
THF	Tetrahydrofuran
TMGA	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylguanidiniumazid
Tos	<i>para</i> -Toluolsulfonyl
Tris	2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propandiol
U	Unit (1 Unit = 1 $\mu$ mol Umsatz/min)
UDP	Uridin-5'-diphosphat
UDP-Gal	Uridin-5'-diphosphat- $\alpha$ -D-Galactopyranosid
UDP-Gal-4-epimerase	Uridin-5'-diphosphat-Galactose-4-epimerase
UDP-Glc	Uridin-5'-diphosphat- $\alpha$ -D-Glycopyranosid
v/v	volume per volume
w/v	weight per volume



## I. Einleitung

### 1.1 Bedeutung der Kohlenhydrate

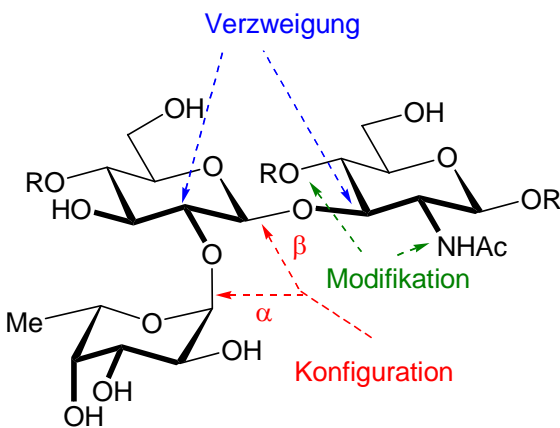
Drei große Klassen der Makromoleküle bzw. Biopolymere bilden die Grundlage aller lebenden Organismen: DNA, Proteine und Kohlenhydrate<sup>[1]</sup>. Kohlenhydrate kommen zwar in allen Lebewesen vor, doch machen nicht alle Organismen in gleichem Maße von den Verbindungen dieser Stoffklasse Gebrauch. Es ist anzunehmen, dass die Hauptmenge an Kohlenhydraten im Pflanzenreich zu finden ist und dort auch am auffälligsten in Erscheinung tritt. Die *de-novo*-Biosynthese organischer Materie in grünen Landpflanzen produziert unmittelbar etwa  $2 \cdot 10^{11}$  t Kohlenhydrate im Jahr, eine Menge, der ein mehr als 10facher bereits vorhandener Bestand zuzurechnen ist<sup>[2]</sup>. Das meiste davon, etwa 90%, findet sich in Bäumen. Die Biosynthese von Algen im Weltmeer<sup>[3]</sup> ist schwer zu schätzen und deshalb hier nicht berücksichtigt.

Die große Masse der Kohlenhydrate hat mehrere biologische Funktionen. Sie dienen Einzellern und auch höheren Organismen als mechanisch stabile Stütz- und Gerüstelemente und sind so mitverantwortlich für eine optimale Statik der Lebewesen. Bei Wirbeltieren sorgen sie mit für reibungslose Bewegungsabläufe und Stoßabsorption. Zum anderen sind Kohlenhydrate eine leicht mobilisierbare Kohlenstoff-Reserve für den höheren Organismus und damit eine Quelle zur Energiegewinnung und zur Herstellung von Verbindungen anderer Naturstoffklassen. Untersuchungen jüngerer Zeit zeigten, dass daneben einer großen Gruppe von oligomeren Kohlenhydraten, die konjugiert sind mit Proteinen oder Lipiden - sog. Glycokonjugaten - eine differenziertere Rolle im allgemeinen biologischen Geschehen zukommt.

Glycokonjugate dienen sehr häufig der allgemeinen Veränderung des chemischen, mehr noch des physikochemischen Verhaltens von Zellbestandteilen oder der sog. extrazellulären Matrix. Sie können etwa zur Erhöhung der Hydrophilie beitragen oder Veränderungen der Ladungsdichte herbeiführen. Sie können aber auch molekulare Merkmale prägen, an denen sich Zellen untereinander erkennen, oder es den Zellen erlauben, sich in ihrer Umgebung zu orientieren.

## 1.2 Die biologische Funktion der Kohlenhydrate

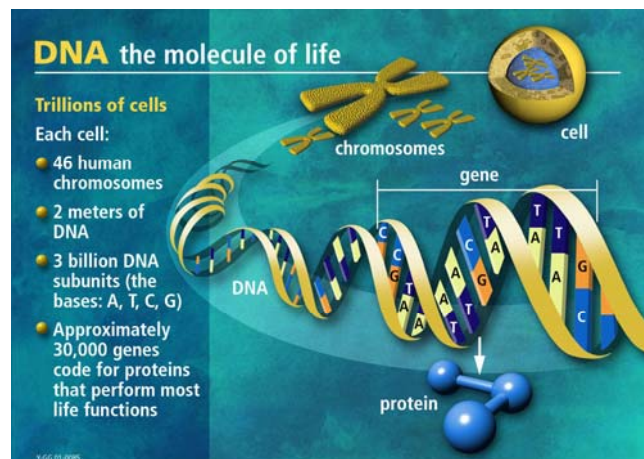
Kohlenhydrate unterscheiden sich gegenüber anderen Biopolymeren generell durch zwei Eigenschaften. Zum einen können sie einen hohen Verzweigungsgrad aufweisen und zum anderen bieten sie auf Grund ihrer Multifunktionalität der einzelnen Monomereinheiten



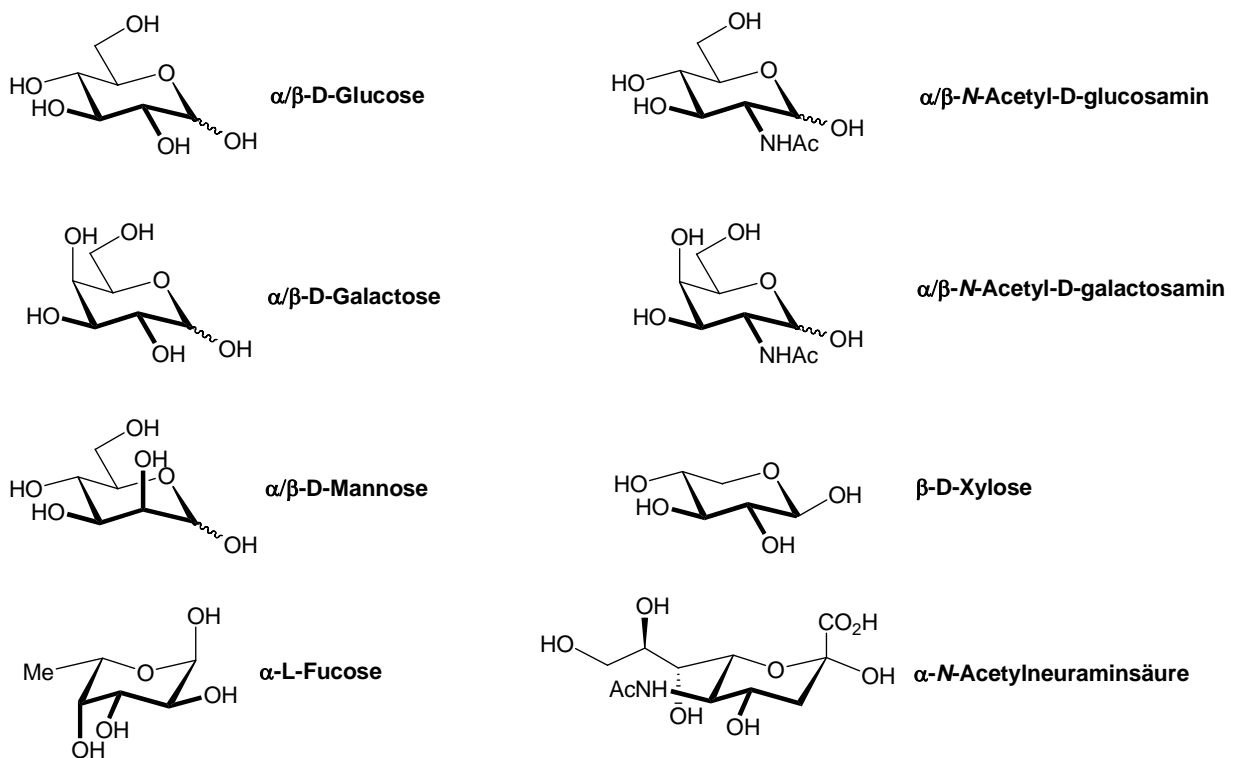
einen nahezu unbegrenzten Zugang zu komplexen Strukturen. Überraschenderweise benutzt die Natur lediglich 8 Grundbausteine (**Abb. 1**), um beispielsweise in Abhängigkeit von der Sequenz, der Art der Verzweigung, der Konfiguration am glycosidischen C-Atom oder möglichen Modifikationen von einzelnen Hydroxy- oder Aminogruppen mehrere Millionen topologisch unterschiedliche Tetrasaccharide aufzubauen.

Proteine und Nucleinsäuren sind dagegen durch die Ausbildung linearer, kovalenter Verknüpfungen von 20 bzw. 4 unterschiedlichen Monomereinheiten gekennzeichnet, wobei eine enorme Anzahl an verschiedenen linearen Sequenzmotiven aufgebaut wird. Hierbei werden bei einer Auswahl von 20 verschiedenen  $\alpha$ -Aminosäuren durch die Ausbildung von Säureamid- bzw. Peptid-Bindungen Proteine zusammengesetzt.

Die Gruppe der Nucleinsäuren wird in Abhängigkeit von der eingebauten Zuckerkomponente in Ribonucleinsäuren (RNA, enthält Ribose) und Desoxyribonucleinsäuren (DNA, enthält Desoxyribose) eingeteilt. Durch die Sequenz von lediglich 4 Komponenten – sog. Nucleotiden – wird z. B. das gesamte menschliche Genom, das aus ca.  $3 \cdot 10^9$  Einheiten besteht, gespeichert<sup>[4]</sup>. Trotz der immensen Anzahl unterschiedlicher Struktur-möglichkeiten der Proteine und Nucleinsäuren wird die strukturelle Vielfalt der Glycopolymere allerdings nicht erreicht<sup>[5-7]</sup>.



Die Identifizierung und Zuordnung der Funktionalitäten von Kohlenhydraten in biologischen Systemen ist seit ca. 25 Jahren ein sich besonders intensiv entwickelndes Forschungsgebiet. Jedoch gestaltet sich der Zugang zu komplexen Kohlenhydratstrukturen auch heute noch sehr zeit- und kostenintensiv. Dies rührt daher, dass bis vor wenigen Jahren keine automatisierte Synthese von Oligosacchariden existierte. Während bei Proteinen und Nucleinsäuren als direkte Genprodukte die Abfolge der Monomereinheiten durch ein Templat vorgegeben ist, hängt die Biogenese von Glycopolymeren von mehreren Faktoren ab, wobei auch heterogene Variationen möglich sind (**Tabelle 1**).



**Abb. 1:** Häufig auftretende Monosaccharidbausteine bei Säugern

Das in der Biosynthese ansonsten zentrale Paradigma der templatgesteuerten Synthese und rationalen Manipulation kann nicht auf Glycokonjugate übertragen werden<sup>[8]</sup>. Im Falle der Glycopolymere spricht man von einer post-translationalen Synthese. Hierbei wird die Strukturbildung von Oligosacchariden durch solche Faktoren wie Konkurrenz von Enzymen um ein Substrat, Enzym-Substratspezifitäten oder auch der lokalen Substratkonzentration beeinflusst. In der Biosynthese ist zudem die Art und der Glycosylierungsgrad entscheidend abhängig vom Zell- bzw. Gewebetyp, dem Entwicklungsstadium der Zelle, der Konzentration und Art beteiligter Enzyme und Cofaktoren<sup>[1]</sup>.

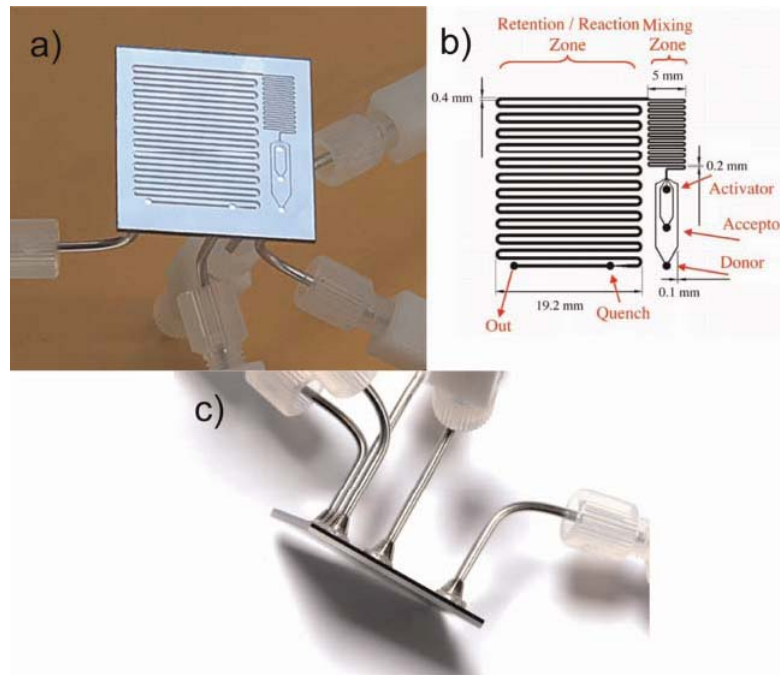
Oligosaccharide sind einerseits aufgrund ihrer Strukturvielfalt in der Lage, effizient riesige Informationsmengen flexibel zu kodieren, was für biologische Erkennungsprozesse wie intrazelluläre Kommunikation über Signalübertragung, Zelladhäsion, Infektion und Zelldifferenzierung bis hin zu Zellenentwicklung und Metastase von essentieller Bedeutung ist<sup>[9-11]</sup>. Jedoch ist es andererseits die Mikroheterogenität der natürlichen Oligosaccharide und ihre geringe Konzentration *in vivo*, die eine individuelle Isolierung und Charakterisierung schwierig machen.

**Tabelle 1:** Methoden zur Gewinnung von Biopolymeren

<i><b>Biomoleküle</b></i>	<i><b>Primäre Methoden</b></i>
<i>Proteine</i>	<b>Automatisierte</b> Peptidsynthese, native Peptidligation, Überexpressionssysteme, Protease-katalysierte Bindungsbildung
<i>Nukleinsäuren</i>	<b>Automatisierte</b> Nukleinsäuresynthese, Polymerase-Kettenreaktion
<i>Kohlenhydrate</i>	<b>Teilweise automatisierte</b> Oligosaccharidsynthese, Isolierung aus Glycokonjugaten, chemische Synthese, enzymatische Synthese

Einige viel versprechende jüngere Arbeiten von *Seeberger*<sup>[12-14]</sup> geben jedoch Anlass zum Optimismus bezüglich der automatisierten Synthese von Oligosacchariden. Hier gelang beispielsweise durch den Einsatz eines Silicon-Microfluid-Mikroreaktors eine rasche Synthese von komplexen Saccharidstrukturen unter Variierung von Reaktionsbedingungen<sup>[15]</sup> (**Abb. 2**). Jedoch hat dieser Durchbruch im Moment eher qualitativen Charakter und bedarf intensiver weiterer Optimierung.



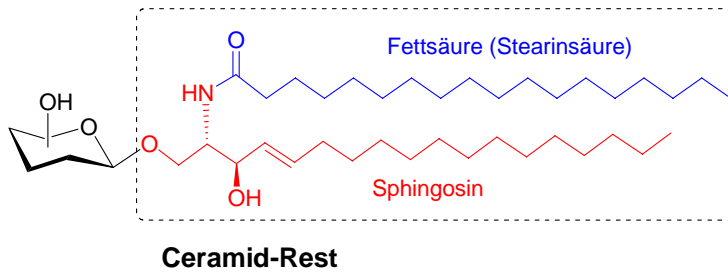


**Abb. 2**<sup>[15]</sup>: a) Silikon-Mikrofluid-Reaktor. b) Schematische Darstellung des Mikroreaktors mit drei primären Eingängen, einer Misch- und Reaktionszone, einem sekundären Quencheingang und einem Ausgang für Analyse/Sammlung. c) Lötverbindungen des Mikroreaktors bzw. Seitenansicht.

Die Kodierung der biologischen Information durch Oligosaccharide wird jedoch nicht wie im Fall der Nucleotide, deren Sequenz als Rückgrat des genetischen Codes dient, durch die Monomersequenz bestimmt, sondern die biologische Information wird in Form dreidimensionaler Strukturen festgehalten. Dies ist von besonderer Wichtigkeit bei Zell-Zell-Adhäsion und Zell-Erkennung. Hierbei fungieren die Kohlenhydratstrukturen der Glycokonjugate als Liganden für spezielle Proteine, so genannten Lectinen oder Selectinen, welche spezifische Strukturelemente von Kohlenhydratanteilen erkennen<sup>[16-19]</sup>. In diesen Ligand-Rezeptor-Wechselwirkungen bilden sich nicht-kovalente Kohlenhydrat-Protein-Komplexe aus, die eine Kaskade weiterer biologischer Abläufe hervorrufen können.

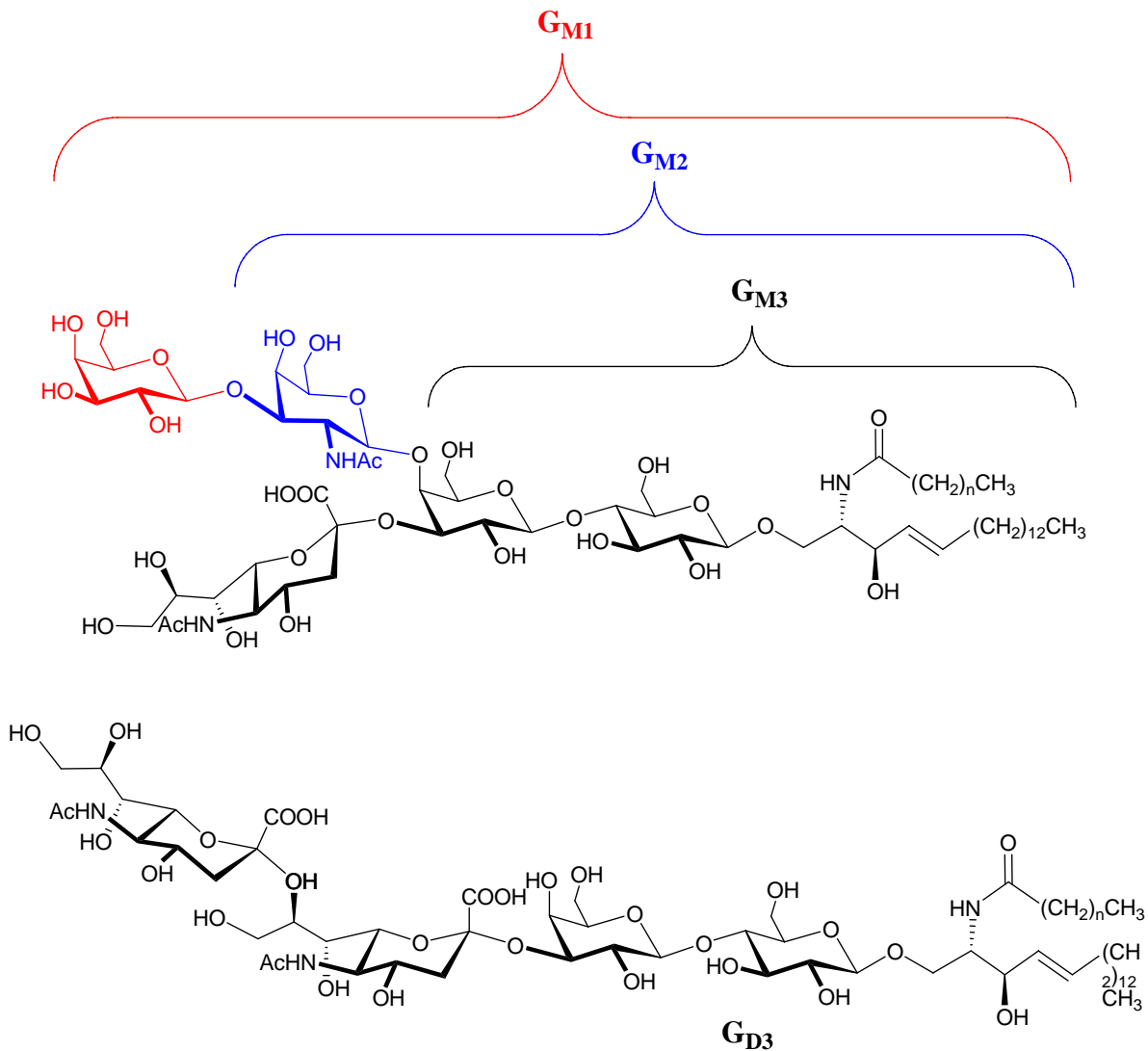
Komplexe Oligosaccharidstrukturen treten in der Natur selten in reiner Form auf, sondern sind vorwiegend als Glycolipide oder Glycoproteine auf der Außenseite von Zellmembranen fixiert<sup>[20-21]</sup>.

Während in Pflanzen und Bakterien Glycolipide überwiegend als Diacylglycerine vorliegen, kommen bei Säugern Glycolipide als Glycosphingolipide vor, bei denen der hydrophile Zuckeranteil an ein hydrophobes Ceramid gebunden ist, das als Membrananker fungiert<sup>[22]</sup>.



**Abb. 3:** Struktur der Sphingolipide

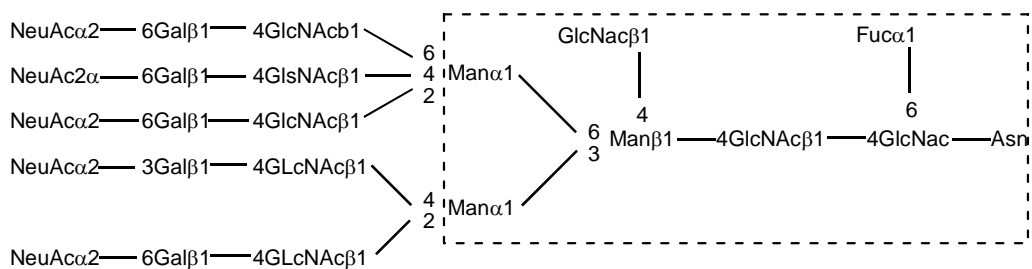
Der Ceramid-Rest setzt sich aus dem Aminoalkohol Sphingosin und einer Fettsäure zusammen (**Abb. 3**). In Abhängigkeit von der Zuckerstruktur unterscheidet man in Cerebroside (ein Monosaccharid), Sulfatide (sulfatveresterte Monosaccharide) und Ganglioside (Oligosaccharid-Seitenketten).



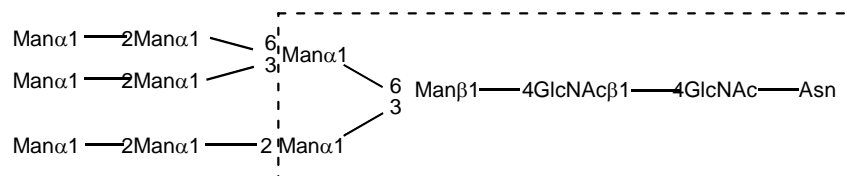
**Abb. 4:** Beispiele wichtiger Gangliosid-Strukturen

Besonderes Interesse gilt der Gruppe der Ganglioside, von denen bereits über hundert identifiziert worden sind. Sie kommen in allen Zellen der Wirbeltiere vor, wobei sie besonders im Hirngewebe stark angereichert sind. Vor allem das strukturell einfachste, sialinsäurehaltige Gangliosid  $G_{M3}$  scheint Gegenstand aktueller Forschungen zu sein, da es auf menschlichen Tumorzellen ein abnormal niedriges Vorkommen zeigt (bei gleichzeitiger Zunahme der  $G_{D3}$ -Konzentration), den Rezeptor des epidermalen Wachstumsfaktor (EFG) moduliert und eine immunsuppressive Wirkung besitzt. Als Bausteine von Zell-Membranen sind Ganglioside wie  $G_{M3}$  im zentralen Nervensystem an der transmembranen Signalübertragung beteiligt, sie dienen über den Sialinsäurerest als Bindungsstelle für Viren, Bakterien und Effektoren und beeinflussen die Zelldifferenzierung unterschiedlicher Zelltypen (**Abb. 4**)<sup>[23-44]</sup>.

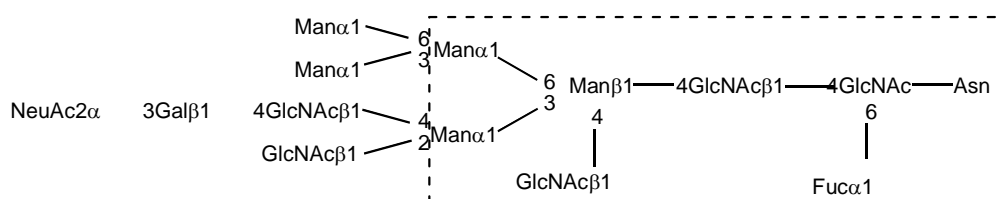
Ähnlich wie bei den Glycolipiden findet man bei vielen Proteinen glycosidisch gebundene, strukturell variantenreiche bioaktive Oligosaccharid-Seitenketten vor. Diese kommen hauptsächlich im Tier- und Pflanzenreich, seltener in Bakterien und Virushüllen vor.

**komplexer Typ**

**mannosereicher Typ**



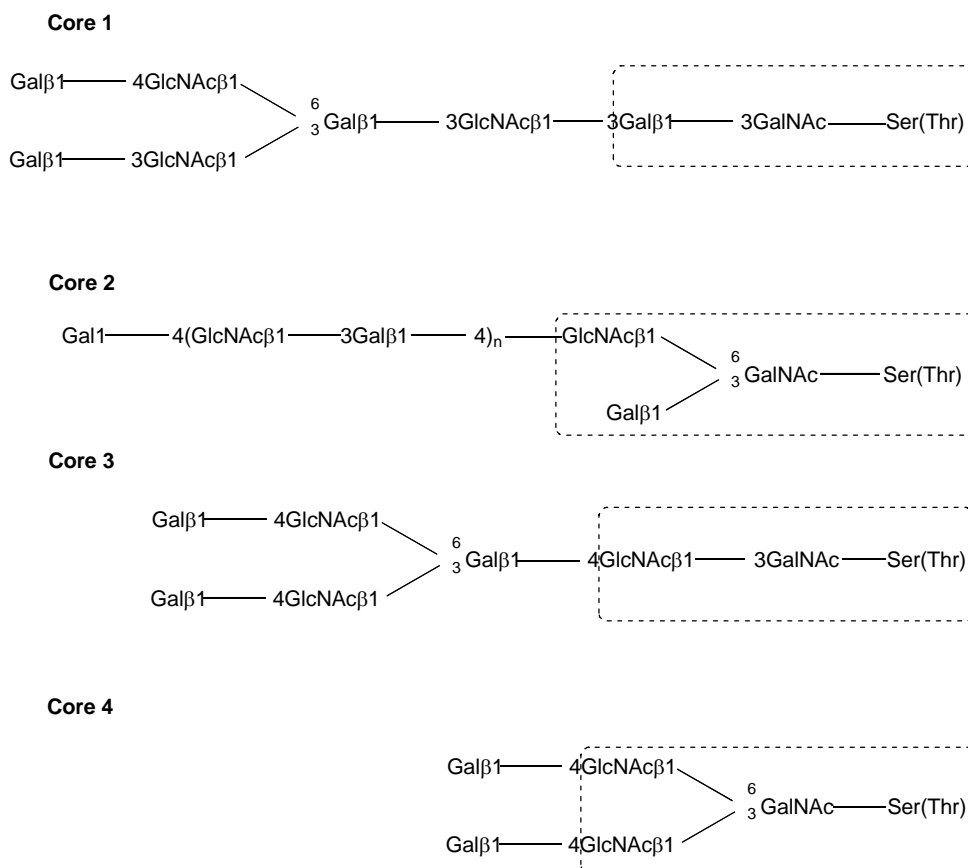
### hybrider Typ



**Abb. 5:** Strukturtypen *N*-verknüpfter Glycoproteine

Hierbei differenziert man nach der Art der Verknüpfung in *N*- und *O*-verknüpfte Glycoproteine. *N*-verknüpfte Oligosaccharide besitzen alle eine gemeinsame Kernstruktur (Core), die sich aus zwei GlcNAc- und drei Man-Einheiten zusammensetzt. Die Verknüpfung hierbei erfolgt durch eine  $\beta$ -glycosidische Bindung einer GlcNAc-Einheit und dem N-Atom der Amidseitenkette eines Asparaginrestes. Je nach Art der Zucker und Verzweigung unterscheidet man in einen komplexen, mannosenreichen und hybriden Typ (**Abb. 5**).

Die weniger weit verbreiteten und somit weniger gut untersuchten *O*-verknüpften Glycoproteine besitzen keine gemeinsame Kernstruktur. Charakteristisch ist lediglich die  $\alpha$ -glycosidische Bindung zwischen einer GalNAc-Einheit und der Hydroxyl-Gruppe eines Serin- oder Threoninrestes. Eine weitere Klassifizierung erfolgt über unterschiedliche Zuckerstrukturen, die direkt an die primäre GalNAc-Einheit gebunden sind (**Abb. 6**).

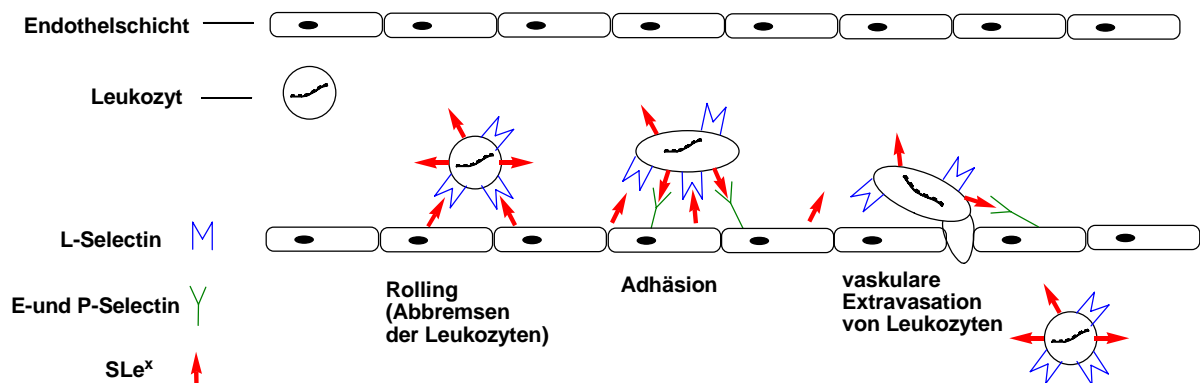


**Abb. 6:** Strukturtypen *O*-verknüpfter Glycoproteine

Als Bestandteile von Zelloberflächen nehmen vor allem die als Glycoproteine gebundenen Kohlenhydratstrukturen einen entscheidenden Einfluss auf Wachstum, Entwicklung, Zelladhäsion, Immunabwehr, Infektion, Metastase und Signalübertragung. Auch wenn trotz

intensiver Forschungen bisweilen die Funktion der Kohlenhydrate nur teilweise verstanden ist, konnte gezeigt werden, dass z. B. der Glycosylierungsgrad von Proteinen die Proteinfaltung und Konformationsstabilität beeinflusst, dass die elektrische Ladung und damit die Wasserbindungskapazität erhöht wird und ein gewisser Schutz vor Proteaseabbau und Antikörperbindung geboten wird<sup>[45-46]</sup>.

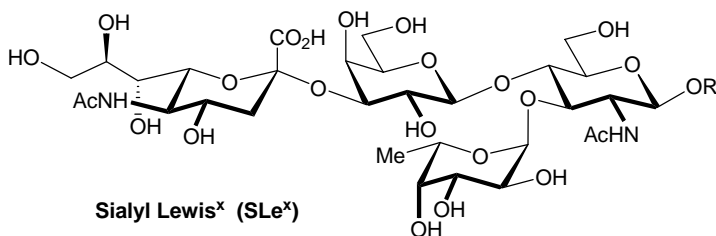
Es gilt als erwiesen, dass eine Reihe von akuten und chronischen Krankheiten auf einer Störung der durch Oligosaccharide vermittelten, interzellulären Kommunikation beruht. Dazu gehören kardiogener Schock, Schlaganfall, Thrombosen, Rheuma, Psoriasis, Dermatitis, Atemnotsyndrom von Erwachsenen, Asthma und Heuschnupfen. Auslöser solcher chronischer Entzündungen sind mit der übermäßigen Ansammlung von Leukozyten im Bereich der Infektionsherde zu erklären, da es zu einer lokalen Überreaktion kommt, was bis zur Schädigung des umliegenden Gewebe führen kann. Dies beruht in der Störung der Leukozyt-Endothel-Erkennung<sup>[47]</sup>. Der komplexe und mehrphasige Vorgang der Auswanderung der Leukozyten aus dem Blutgefäß zum Ort des Entzündungsprozesses setzt eine spezifische und genau kontrollierte gegenseitige Erkennung von Leukozyten und Endothelzellen voraus<sup>[48-49]</sup>. E-Selektine als membranständige Adhäsionsrezeptoren, die aufgrund stimulierender Entzündungsmediatoren an der Oberfläche der Endothelzellen exprimiert werden, treten in Wechselwirkung mit den entsprechenden, ebenfalls membranständigen Kohlenhydratligenanden der Leukozyten. Es folgt eine lockere Anheftung, wodurch die Leukozytengeschwindigkeit stark herabgesetzt wird (Rolling). Die Reduzierung der Leukozytengeschwindigkeit ermöglicht verstärkte Wechselwirkungen zwischen weiteren Adhäsionsrezeptoren (z. B. P-Selektin, L-Selektin und Integrine) und den entsprechenden Liganden, was zu einer hoch-affinen Bindung zwischen Leukozyt und Endothel führt.



**Abb. 7:** Wechselwirkung zwischen Leukozyten und Endothelzellen im Blutgefäß

Schließlich zwingen sich die Leukozyten durch die schmale Öffnung zwischen benachbarten Endothelzellen und dringen in das darunter liegende Gewebe ein (Extravasation) (**Abb. 7**).

Die sialinsäurehaltige Tetrasaccharid-Einheit Sialyl-Lewis<sup>x</sup> (SLe<sup>x</sup>), auch als Teilstruktur von Glycosphingolipiden und Glycoproteinen identifiziert, ist unter anderem auf der Leukozytenmembran lokalisiert und wird von kohlenhydratbindenden Selektinen als Ligand erkannt. Aufgrund der oben erwähnten Krankheiten, die unter anderem zu einer übermäßigen Anreicherung der weißen Blutkörperchen im Gewebe führen, ist man stark daran interessiert, Antiadhäsionstherapeutika vom SLe<sup>x</sup>-Typ oder ähnliche Analoga zu entwickeln, die als alternative Selektinliganden die eigentliche Wechselwirkung zwischen Endothel und Leukozyten unterbinden können.



**Abb. 8:** Struktur der Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Komponente

## 1.3 Sialinsäuren

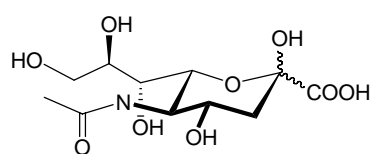
### 1.3.1 Vorkommen, Bedeutung und Funktion

Glycan-Ketten der zu den Wirbeltieren gehörenden Glycokonjugate bestehen meistens aus C<sub>5</sub>- bzw. C<sub>6</sub>-Zuckern. Eine Ausnahme bilden hier die zur Klasse der 3-Desoxy-2-ulosonsäure gehörenden Sialinsäuren, einer α-Oxo-Säure mit einem C<sub>9</sub>-Gerüst, die sich durch einige besondere Eigenschaften von anderen Kohlenhydraten hervorheben. Zum einen sind sie stets in exponierter Stellung zu finden<sup>[50-52]</sup>, wo sie durch ihre Außenposition häufig die Aufgabe der Signalübertragung und Wechselwirkung mit anderen Zellen übernehmen. Ein Unterschied zu anderen Monosacchariden ist ihre ungleiche Verteilung in der Natur: man findet sie lediglich in Glycolipiden und Glycoproteinen von Wirbeltieren und einigen höheren Wirbellosen sowie in Bakterien, jedoch nicht im Pflanzenreich vor<sup>[53]</sup>. Mittlerweile sind knapp 70 verschiedene Derivate von Sialinsäuren nachgewiesen worden.

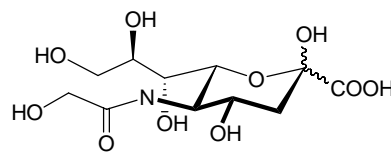
Die eigentliche Entdeckung der Sialinsäuren geht auf *Klenk* (1935) und *Blix* (1936) zurück<sup>[54,55]</sup>. *Blix* isolierte die Sialinsäure aus einem Mucin (Sialos = Speichel *gr.*) und *Klenk* die „Neuraminsäure“ aus dem Glycolipid eines Hirngewebes (Neuro- + Amin + Säure). Sialinsäuren können mittlerweile aus einer Reihe natürlicher Quellen isoliert werden. So enthalten essbare, chinesische Vogelnester im Trockengewicht 2-11% des bekanntesten Vertreter der Sialinsäureklasse Neu5Ac (*N*-Acetyl-5-amino-3,5-didesoxy-D-*glycero*-D-*galacto*-non-2-ulopyranosonsäure)<sup>[56-58]</sup>. In Unterkieferspeichel-Drüsen können bis 25% der gleichen Verbindung vorgefunden werden<sup>[50,59]</sup>.

Sialinsäuren bilden in Lösung eine Pyranose-Ringstruktur mit einer <sup>2</sup>C<sub>5</sub>-Sesselkonformation aus und kommen in natürlichen Glycokonjugaten ausschließlich in der  $\alpha$ -Konfiguration vor<sup>[60,61]</sup>. Die Anbindung erfolgt hierbei über  $\alpha$ -2,3-Verknüpfungen zu Galactose,  $\alpha$ -2,6-Verknüpfungen zu Galactose bzw. *N*-Acetylgalactosamin oder auch  $\alpha$ -2,8- oder  $\alpha$ -2,9-verknüpft an Sialinsäuren selbst. Lediglich die aktivierte Form als CMP-Sialinsäure durchläuft in der Biosynthese die  $\beta$ -Konfiguration. In wässriger Lösung liegen die freien Sialinsäuren als  $\alpha/\beta$ -Anomerengemische vor, wobei das Gleichgewicht eindeutig auf Seiten des  $\beta$ -Anomeren liegt<sup>[62,63]</sup>.

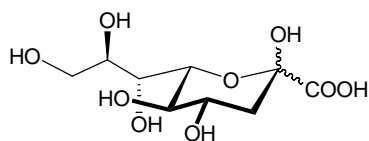
Die breite Diversität der Sialinsäuren basiert auf dem Grundgerüst der *N*-Acetylneuraminsäure. Der anfängliche ausschließliche Begriff Neuraminsäure musste zu Gunsten des allgemeinen Begriffs Sialinsäure weichen, nachdem die 3-Desoxy-D-*glycero*-D-*galacto*-2-nonulopyranosonsäure (KDN) entdeckt wurde (**Abb. 9**). Diese besitzt an Position C-5 anstelle ihrer Aminfunktion eine Hydroxy-Gruppe. KDN ist neben ihrer Struktur auch bezüglich seiner Zugänglichkeit und Biosynthese dem Neu5Ac sehr ähnlich<sup>[64-68]</sup>.



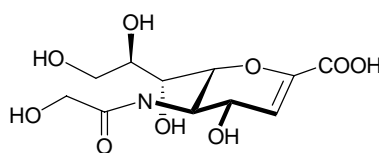
5-*N*-Acetylneuraminsäure (Neu5Ac)



5-*N*-Glycolylneuraminsäure (Neu5Gc)



2-Keto-3-desoxynonulosonsäure (KDN)



2-Desoxy-2,3-didehydro-NeuGc

**Abb. 9:** Die bekanntesten Vertreter der Sialinsäuren

Alle anderen bekannten Strukturen sind biosynthetische Derivate von Neu5Ac oder KDN. *N*-Glycolylneuraminsäure (Neu5Gc) erhält man z. B. aus CMP-Neu5Ac durch Addition eines Sauerstoffs unter Katalyse der CMP-Neu5Ac-Hydroxylase<sup>[69]</sup>. Neuraminsäuren mit unsubstituierten Aminfunktionen werden durch enzymatischer Deacetylierung aus Neu5Ac erhalten<sup>[70]</sup>. Weitere strukturelle Modifikationen werden neben der Variation an C-5 durch Ausbildung von Acetaten, Lactaten, Sulfaten, Phosphateestern oder Methylether an C-4, C-7-C-8 oder C-9 erreicht. Intra- oder intermolekulare Lactonisierung unter Einbeziehung des Carboxylats am C-1 und intramolekulare Lactam-Ausbildung zwischen C-1 und C-5 sind weitere Möglichkeiten. 2-Desoxy-2,3-didehydro-NeuGc ist z. B. ein Vertreter, der auf Grund des Fehlens einer  $\alpha$ -Keto-Gruppe nur in freier Form vorliegt<sup>[71]</sup>. Einige der Sialinsäure ähnliche Verbindungen mit einem C<sub>9</sub>-Gerüst wie die Legionaminsäure oder Pseudaminsäure (**Abb. 10**), die nur in Bakterien gefunden worden sind, und einen ähnlichen biosynthetischen Pfad durchlaufen, werden neuerdings unter dem Oberbegriff der Sialinsäuren gehandelt<sup>[71]</sup>.



**Abb. 10:** Einige neue Vertreter der Sialinsäuren

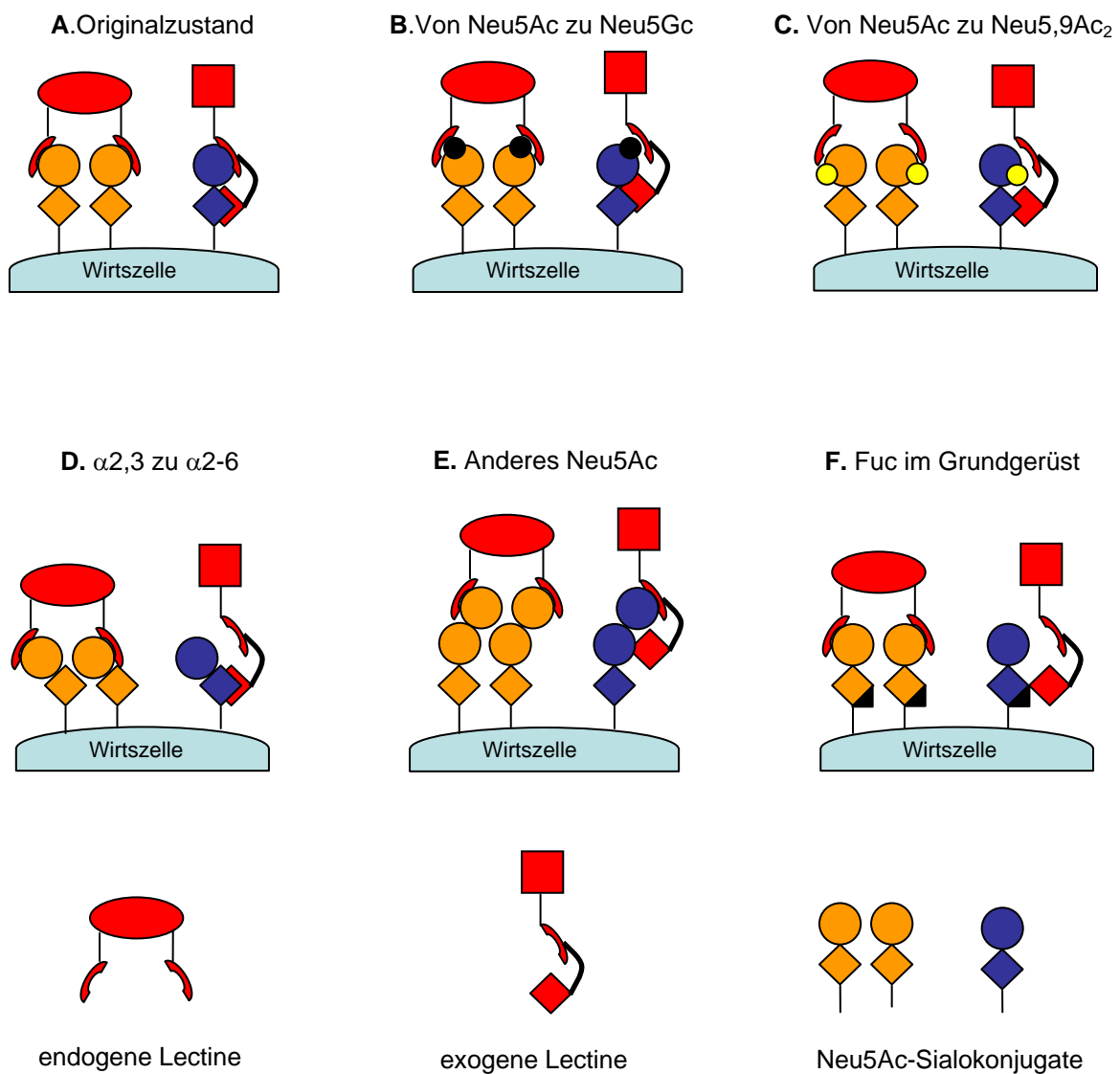
Die biologischen Funktionen der Sialinsäuren werden vorwiegend auf ihre Größe, ihre negative Ladung und ihre exponierte Stellung, die sie in vielen Membranproteinen, Gangliosiden und auf Zelloberflächen von Bakterien, Viren und Tumorzellen einnehmen, zurückgeführt<sup>[53,60]</sup>.

Schätzungsweise bis  $10^7$  Sialinsäure-Einheiten sind an eine einzige menschliche Zelle gebunden. Die daraus resultierende negative Gesamtladung verhindert zum einen eine direkte Aggregation der Zellen untereinander durch elektrostatische Abstoßung, zum anderen aber wird die Zusammenlagerung zum Zellverband erst über Calcium-Brücken ermöglicht. Zusätzlich wird durch die negative Ladung die Stabilität und Starrheit der Zelloberflächen, sowie die Unterstützung des Ionentransports durch die Zellmembran beeinflusst. Auch die Viskosität vieler Körperflüssigkeiten, Sekrete und Mucine ergibt sich aus dem Sialyierungsgrad gelöster Proteine, deren Konformation speziell durch solche geladenen Zuckerstrukturen beeinflusst wird<sup>[73]</sup>.

Eine große Rolle spielen Sialinsäuren als biologische Rezeptoren in Erkennungsprozessen. Als terminale Einheiten von komplexen Oligosaccharidstrukturen dienen sie als



Bindungsstellen für viele Bakterien, Viren und Toxine oder Hormone<sup>[74,75]</sup>. Auf Grund endogener und exogener Erkennungsprozesse erklärt dies unter anderem auch die breite strukturelle Vielfalt der Sialinsäuren<sup>[53]</sup>. Erkennen endogene (links) oder exogene (rechts) Lectine (**Abb. 11**) lediglich die natürliche Sialinsäure Neu5Ac (**A**), so kann die Substitution an Position C-5 (**B**) oder Substitution der Hydroxy-Gruppe an C-9 (**C**) die Erkennung des pathogenen Lectins unterbinden. Weisen jedoch Pathogene eine breitere Substratspezifität auf, so kann die Veränderung der Verknüpfung der Sialinsäure (**D**), die Anknüpfung einer völlig anderen Sialinsäurestruktur (**E**, z. B. von GM<sub>3</sub> zu GD<sub>3</sub>) oder Anbindung einer zusätzlichen Zuckerkomponente zum Glycanrest (**F**, z. B. von Sialyllactosamin zu Sialyl-Lewis<sup>x</sup>) sich als effektive Maßnahme der Erkennungsblockade erweisen.



**Abb. 11**<sup>[53]</sup>: Sialinsäure-Modifikationen und deren Effekte bei der Erkennung von endogenen/exogenen Lectinen

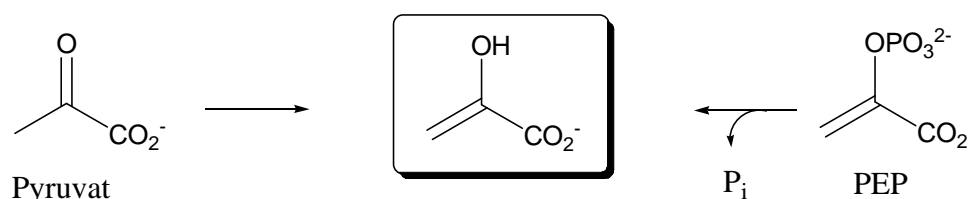
Sialinsäuren spielen bei vielen elementaren Infektionskrankheiten eine Rolle. Beispielhaft ist hier die spezifische Anheftung des Influenza A-Virus über seine Hämagglutinin-Einheiten an spezielle, sialylierte Membran- oder Oberflächenproteine zu nennen. Erst nachdem eine am Virus enthaltene Sialidase, ein Enzym, das die glycosidische Bindung von Sialinsäuren spezifisch hydrolysiert, die terminalen Sialinsäureeinheiten vom Oligosaccharid abgespalten hat, erfolgt die Anheftung. Eine Modifikation der Sialinsäure, die Einführung einer O-Acetylgruppe am C-9, wirkt dem Abbau blockierend entgegen und beugt somit einer Anheftung vor<sup>[76]</sup> (C, **Abb. 11**).

Darüber hinaus erfüllen Sialinsäuren die Fähigkeit der Maskierung von Strukturen, an denen sie gebunden sind<sup>[77]</sup>. Durch wirkungsvolle Blockade wichtiger Antigen-Strukturen und Erkennungsmarkern auf Zelloberflächen bilden sie somit einen Schutz der entsprechenden Zellen vor dem Zugriff des sie umgebenden Immunsystems. So konnte gezeigt werden, dass nach Behandlung von Erythrozyten, Lymphozyten oder Thrombozyten mit Sialidase diese im Körper innerhalb weniger Stunden von Makrophagen über Galactose-spezifische Lectine gebunden und vernichtet werden. Der vollständige Abbau von nicht mit Sialidase behandelten Zellen tritt erst in einem Zeitraum von bis zu 120 Tagen ein<sup>[78]</sup>. Der Sialylierungsgrad von Zelloberflächen spielt somit eine besondere Rolle bei der Regulation der natürlichen Lebensspanne von Zellen, aber auch bei vielen anderen biologischen und pathologischen Prozessen wie z. B. dem programmierten Zelltod (Apoptose) oder der Metastasierung von Krebszellen.

### 1.3.2 Enzymatische Synthese von Sialinsäuren

Angesichts der breiten strukturellen Diversität der Sialinsäurekonjugate in der Natur, vor allem der verschiedenen Modifikationen an Zelloberflächen und Geweben, geht man trotz vieler Unklarheiten davon aus, dass ihnen allen eine gemeinsame Biosynthese zu Grunde liegt. Der Zugang zu solchen modifizierten Sialosiden bzw. Sialokonjugaten gestaltet sich jedoch extrem schwierig. Zum einem ist eine Isolierung eines homogenen Konjugats aus natürlichen Quellen extrem aufwendig<sup>[79]</sup>, zum anderem ist die chemische Sialylierung oftmals umständlich und unergiebig<sup>[80,81]</sup>. Obwohl Sialyltransferase-katalysierte Reaktionen (Sialyltransferase ist ein Enzym, das eine Sialinsäure typischerweise in einer  $\alpha$ -2,3- oder  $\alpha$ -2,6-Verknüpfung auf ein Galactose-Rest überträgt) einen enormen Vorteil bieten, wird dieser durch einen niedrigen Expressionslevel und die eingeschränkte Substratspezifität des Enzyms, vor allem aus Säugetierquellen<sup>[80-87]</sup>, herabgestuft. Aktuelle chemische<sup>[80,81,88-91]</sup> sowie enzymatische<sup>[92-101]</sup> Sialylierungen stehen mittlerweile stark im Fokus einiger Arbeitsgruppen. Aber auch die Verbesserung der bekannten Synthesemethoden zur Erlangung größerer Mengen natürlicher modifizierter Sialinsäuren bleibt von großem Interesse.

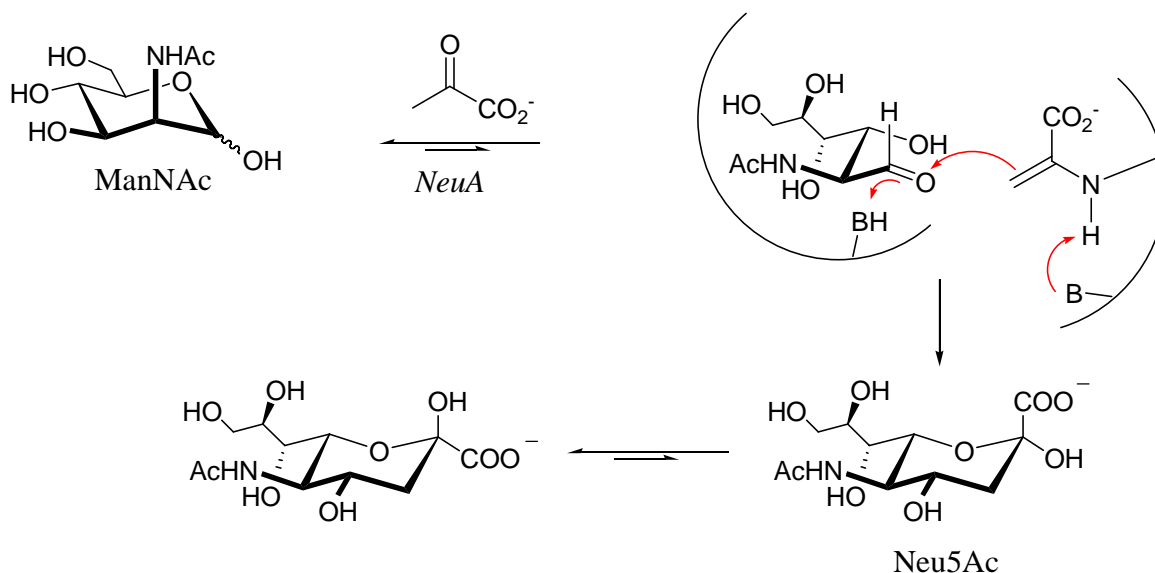
Für den präparativen Aufbau einzelner Sialinsäurestrukturen unter Verwendung von Lyasen stehen prinzipiell zwei unterschiedliche enzymatische Synthesewege zur Verfügung. In Abhängigkeit von der jeweiligen nucleophilen Komponente unterscheidet man in Pyruvat-abhängige Lyasen (Aldolasen) und Phosphoenolpyruvat(PEP)-abhängige Lyasen (Synthasen). Ihnen gemeinsam ist die Übertragung des C-3-Fragments auf die Aldose unter Ausbildung von 3-Desoxy-2-oxocarbonsäuren (**Abb. 12**)<sup>[102]</sup>.



**Abb. 12:** Einteilung der Lyasen gemäß ihrer Donor-Komponenten

Für synthetische Zwecke wird vor allem die N-Acetylneuraminsäure-Aldolase (NeuA, EC 4.1.3.3) eingesetzt. Diese ist aus Bakterien und Eukaryonten isoliert worden und nach Überexpression aus *Escherichia coli* sowie *Clostridium perfringens* kommerziell verfügbar<sup>[102-105]</sup>. Der Mechanismus der Enzym-katalysierten Reaktion beinhaltet die Bildung

einer Schiff'schen Base zwischen einem Lysin-Rest im Aktivzentrum des Enzyms und dem Donorsubstrat Pyruvat. Diese kondensiert mit dem Akzeptorsubstrat in einer allgemeinen Säure/Base-katalysierten Reaktion<sup>[81]</sup>.

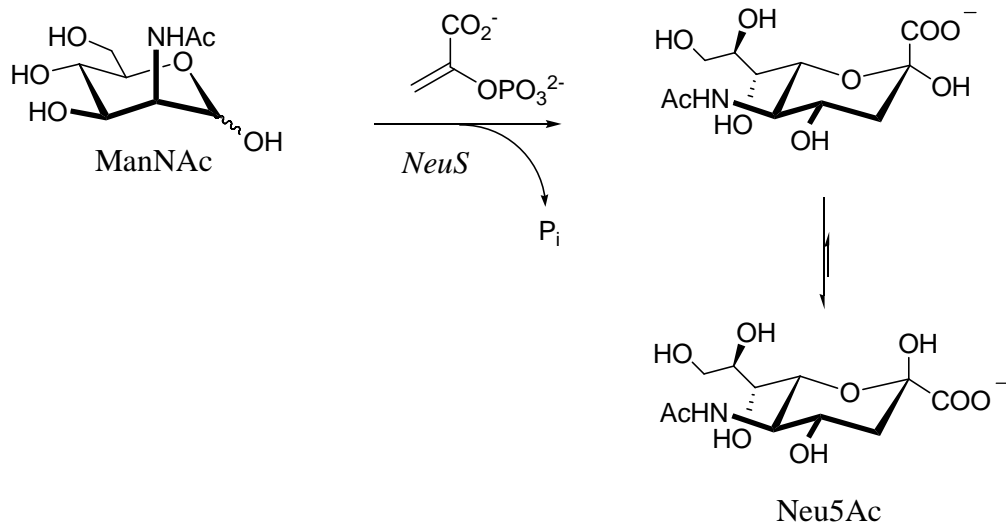


**Abb. 13:** NeuA-katalysierte Neu5Ac-Synthese

Die eigentliche biologische Funktion der Neu5Ac-Aldolase ist die Spaltung von Neu5Ac<sup>[106,107]</sup>. Für synthetische Zwecke kann jedoch das Gleichgewicht in zugunsten der Neuraminsäure durch den Einsatz eines bis zu zehnfachen Überschuss an Pyruvat verschoben werden. Neben der klassischen Aufreinigung des Reaktionsgemischs mittels Ionenaustauschchromatographie oder extraktiven Verfahren<sup>[108,109]</sup> bietet sich der Einsatz der Pyruvat-Decarboxylase an, durch die überschüssiges Pyruvat in leicht flüchtigen Acetaldehyd und Kohlendioxid gespalten werden kann<sup>[110]</sup>.

Ein weiteres Enzym, die N-Acetylneuraminsäure-Synthase bzw. -Lyase (NeuS, EC 4.1.3.19) katalysiert unter Verbrauch von Phosphoenolpyruvat (PEP) als Nucleophil und Freisetzung von anorganischem Phosphat die irreversible Bildung der Sialinsäure<sup>[102]</sup> (**Abb. 14**).

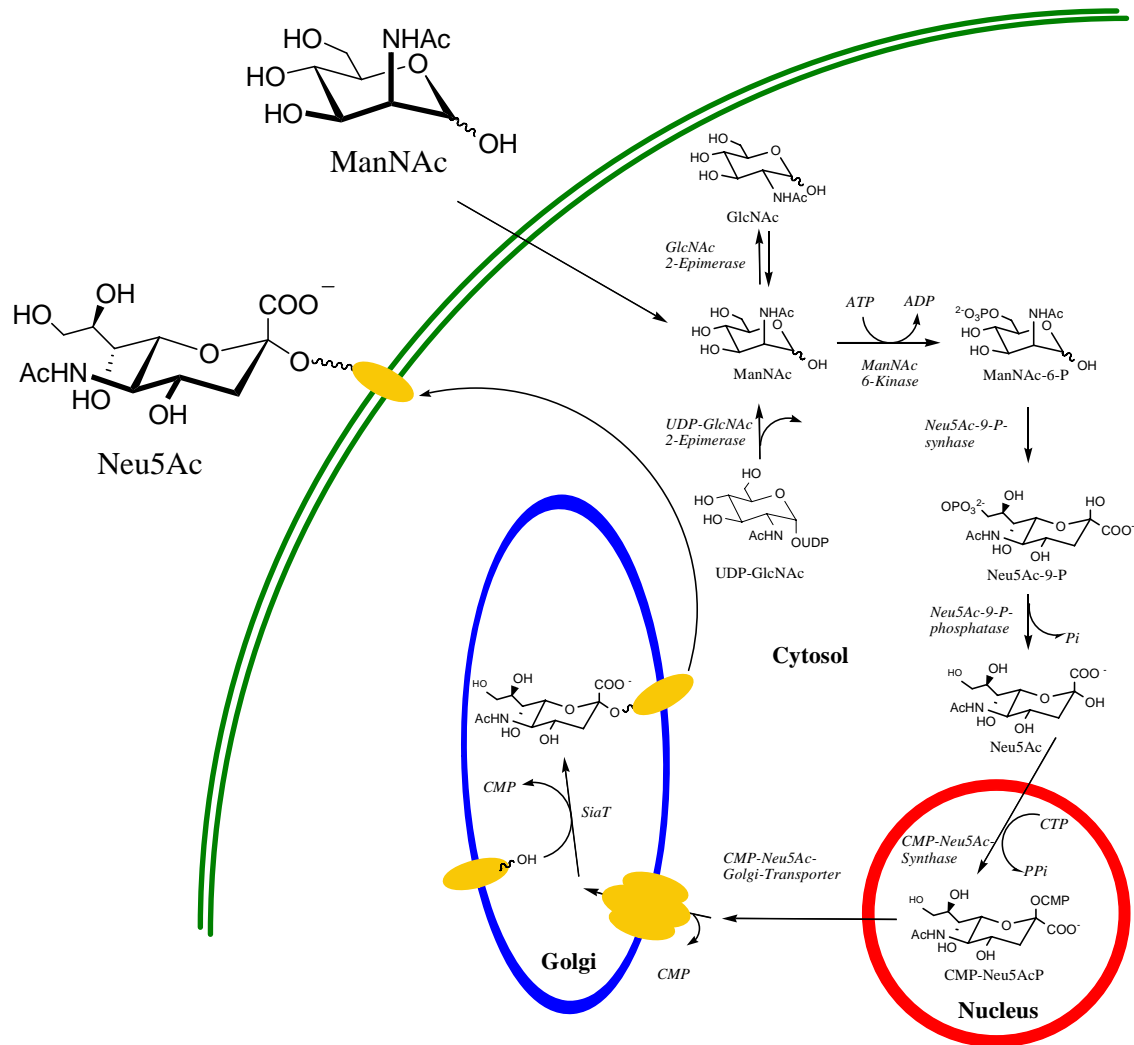
Die NeuAc-Lyase, die im Sialinsäurestoffwechsel der humanpathogenen Bakterien *Neisseria meningitidis* Serogruppe B und *E. coli* K1 vorkommt, ist bislang kommerziell nicht erhältlich. Das Enzym aus *Neisseria meningitidis* Serogruppe B konnte erfolgreich in unserem Arbeitskreis von Frau Dr. M. Knorst in großem Maßstab mit Hilfe eines effektiven Überexpressionssystems in *E. coli* in großem Maßstab für präparative Zwecke zur Verfügung gestellt werden<sup>[111]</sup>.



**Abb. 14:** NeuS-katalysierte Neu5Ac-Synthese

Die natürliche Route zum Aufbau von Sialinsäurestrukturen verläuft, wie in **Abb. 15** verdeutlicht, über den Biosyntheseweg in mehreren topologischen Schritten<sup>[112]</sup>. Das eingesetzte *N*-Acetylmannosamin, *in vivo* entweder aus UDP-*N*-acetylglucosamin via *UDP-GlcNAc-Epimerase* oder aus GlcNAc durch Katalyse von *GlcNAc-2-Epimerase* erhältlich, wird als Precursor der Biosynthese eingesetzt. Mit Hilfe der *ManNAc-6-Kinase* und unter Verbrauch von ATP als Energielieferant wird zuerst in 6-Position phosphoryliert und das Zuckerphosphat von einer spezifischen Synthase mit PEP unter Freisetzung von anorganischem Phosphat zur 9-Phospho-Neuraminsäure kondensiert. Durch Dephosphorylierung mit einer spezifischen Phosphatase kann die freie Neuraminsäure erhalten werden.

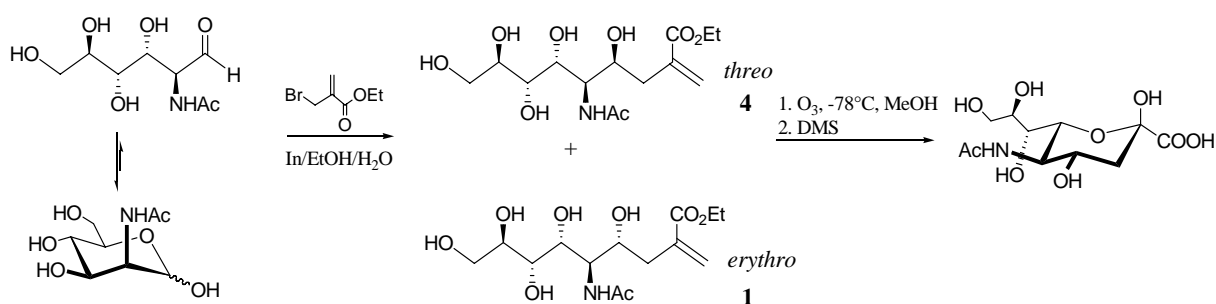
Mit Hilfe der *CMP-Neu5Ac-Synthase* wird unter Verbrauch von CTP im Nucleus die Neuraminsäure aktiviert. Der aktivierte Zucker wird anschließend zum Golgi-Apparat transportiert, wo er als Donor unter Katalyse einer spezifischen Sialyltransferase auf ein Glycan übertragen wird. Über weitere zelluläre Prozesse wird das entsprechende sialylierte Glycoprotein oder Glycolipid in die Zellmembran eingebaut.



**Abb. 15**<sup>[112]</sup>: Biosynthese von Sialinsäuren

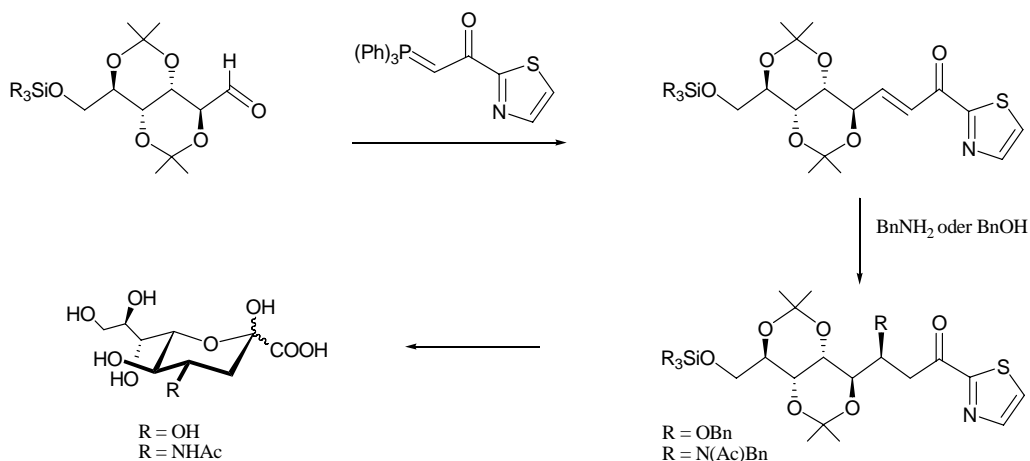
### 1.3.3 Chemische Synthese von Sialinsäuren

Neben der enzymatischen Synthese ist eine Reihe eleganter chemischer Methoden zur Herstellung von Sialinsäuren entwickelt worden<sup>[112,113]</sup>. Zum Beispiel ergibt die Kondensation von ManNAc mit Ethyl- $\alpha$ -brommethylacrylat unter In-Vermittlung in leicht saurer wässriger Umgebung das entsprechende Enolat als Diastereomerengemisch (*threo/erythro* 4:1)<sup>[114]</sup>. Ozonolyse der Vinyl-Gruppe mit anschließender oxidativer Aufarbeitung liefert Neu5Ac in 51% (**Abb. 16**). Die Methode der In-Vermittlung konnte ebenso erfolgreich bei der Synthese von KDN<sup>[115]</sup>, KDO<sup>[116]</sup> und Seiten-Ketten-verkürzten Strukturen, die mittels enzymatischer Verfahren nicht zugänglich sind, angewendet werden<sup>[117,118]</sup>.



**Abb. 16:** Indium-vermittelte Allylierung von ManNAc

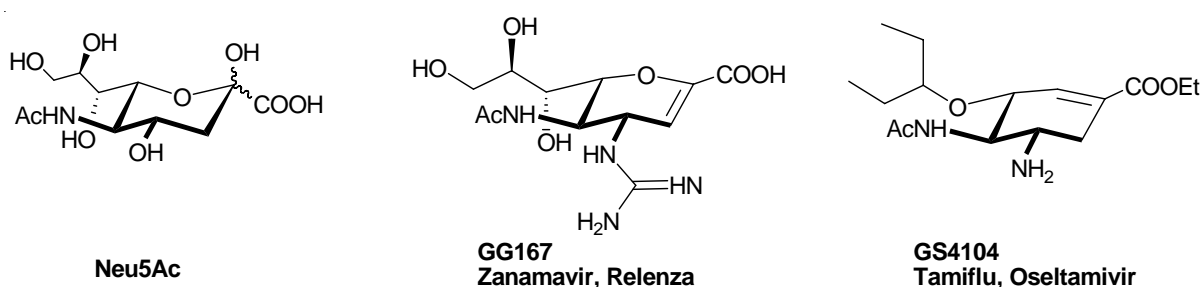
Dondoni *et al* entwickelten die Thiazol-Methode, um den Zugang zu substituierten 4-Amino-Sialinsäureanaloga zu ermöglichen<sup>[119,120]</sup>. Hierbei wird das Kohlenstoffgerüst mittels einer Wittig-Reaktion zwischen einem selektiv-geschützten Mannose-Derivat und einem Thiazol-Ylid aufgebaut (**Abb. 17**). Konjugierte Addition des Benzylamins an das Enon liefert überwiegend das *syn(threo)*-Addukt, welches anschließend in das 4-Acetamido-4-desoxy-KDN-Derivat umgewandelt wird.



**Abb. 17:** Thiazol-Methode zur Synthese von 4-Acetamido-4-desoxy-KDN.

Die erste *de novo*-Synthese von Neu5Ac wurde von Danishefsky *et al* durchgeführt<sup>[113]</sup>. Hierbei gilt als Schlüsselschritt eine Hetero-Diels-Alder-Reaktion zwischen einem Aldehyd und einem Dien mit anschließender stereoselektiver Osmolyse und die Verwendung eines Furans als Precursor der Carbonsäure. Über den Einsatz einer Salen-Co(II)-Hetero-Diels-Alder-Reaktion und oxidativer Azidierung eines Silylenolethers als Schlüsselschritt wurde

ebenso berichtet<sup>[121]</sup>. Eine hocheffiziente Totalsynthese von KDN durch Einsatz einer neuen Ketalisierung/Ringschlußmetatase wurde von *Burke* entwickelt<sup>[122,123]</sup>. Zahlreiche andere Sialinsäureanaloge, die als Substrate oder Inhibitoren für Schlüsselenzyme des katabolen und anabolen Sialinsäuremetabolismus untersucht worden sind, wurden mittels chemischer Synthese hergestellt. In den Mittelpunkt des Interesses sind Derivate gerückt, bei denen der Ringsauerstoff durch Schwefel, Stickstoff oder Kohlenstoff ersetzt ist<sup>[124-126]</sup>. Die Triebfeder für die große Nachfrage an Sialinsäureanaloge liegt in der Tatsache, dass einige Derivate von Neu5Ac wie Zanamivir/Relenza<sup>[127-130]</sup> und Tamiflu, Oseltamivir<sup>[131-133]</sup> in der Behandlung von Influenza eingesetzt werden. Bei den genannten Beispielen handelt es sich um Inhibitoren der Influenza-Neuraminidase<sup>[81,134,135]</sup>, einem Enzym, von dem bekannt ist, dass es endständige Sialinsäurestrukturen spaltet, die an Glycoproteine und Glycolipide gebunden sind. Auf weitere Synthesemöglichkeiten mittels rein chemischer Manipulationen sei auf die Literatur verwiesen<sup>[136]</sup>.



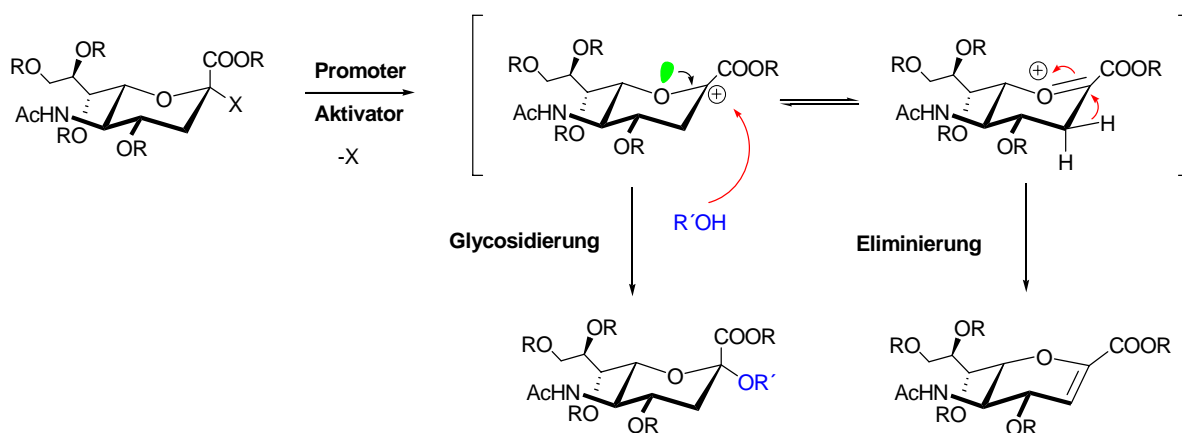
**Abb. 18:** GG167 und GS 4104 als Inhibitoren der Influenza-Neuraminidase

### 1.3.4 Synthese von Sialokonjugaten

Die chemische Glycosidierung von Sialinsäuren gestaltet sich auf Grund der verschiedenen Verknüpfungsmöglichkeiten zwischen den multifunktionellen Monosacchariden und der geringen Reaktivitätsunterschiede der Hydroxygruppen als schwierig. Darüber hinaus spielt das Schutzgruppen- und Substitutionsmuster des Sialindonors, die Wahl des Aktivators und die Wahl des Donors eine entscheidende Rolle<sup>[137, 138]</sup>. Auch nach entsprechender Schützung destabilisiert die Anwesenheit der Carboxy-Funktion die Bildung des Oxonium-Ion-Intermediats auf Grund induktiver elektronenziehender Effekte. (**Abb. 19**). Die sterischen Beschränkungen am C-2-Zentrum und das Fehlen eines Substituenten am C-4 mit



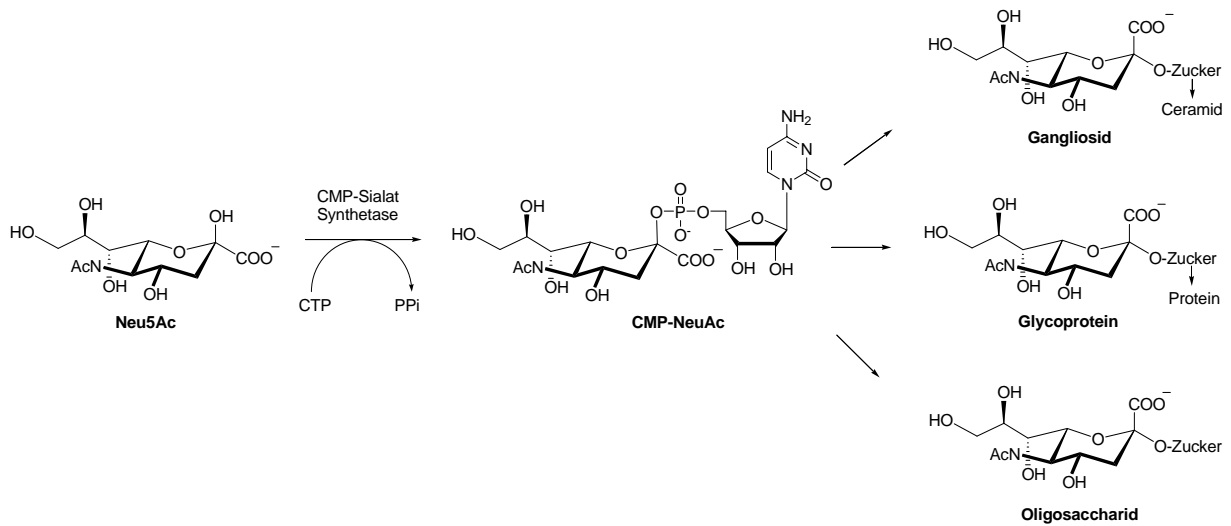
dirigierender Wirkung führen oft zu geringer Stereoselektivität und Bildung von Nebenprodukten wie Eliminierung zum 2,3-Dehydro-Derivat.



**Abb. 19:** Chemische Synthese von Sialokonjugaten

Alternativ dazu bieten sich enzymatische Methoden an. Eine Enzymklasse, die für die Umwandlungen glycosidischer Bindungen in Frage kommt, sind Glycosidasen<sup>[8,139]</sup>. Sie katalysieren *in vivo* die diastereoselektive Hydrolyse von glycosidischen Bindungen, können aber unter thermodynamisch- oder kinetisch-kontrollierten Bedingungen auch für synthetische Zwecke benutzt werden. Jedoch sind die schlechten Ausbeuten (15-40%) und die daraus resultierende schwierige Produktisolierung sowie der Einsatz kostspieliger Donoren für synthetische Zwecke beschränkt geeignet.

Eine wesentlich elegantere und effiziente Methode bietet der an die Biosynthese angelehnte hochselektive Sialyltransfer (Abb. 15). Gemäß dem Leloir-Weg<sup>[140-144]</sup> wird in einem zweistufigen Prozeß *in vivo* zuerst die Sialinsäure unter Katalyse der CMP-Sialat-Synthetase (EC. 2.7.7.43) und Verbrauch von CTP zur CMP-*N*-Acetylneuraminsäure (CMP-Neu5Ac) aktiviert. Die aktivierte Sialinsäure wird anschließend durch eine Sialyltransferase unter Bildung des entsprechenden sialylierten Glycokonjugats übertragen (Abb. 20). Die für die enzymatische Aktivierung benötigte CMP-Sialat-Synthase aus *E. coli* ist zwar kommerziell erhältlich (25 U für 193 Euro), jedoch für präparative Zwecke viel zu teuer. Eine neue rekombinante Synthetase aus *Neisseria meningitidis* konnte ursprünglich durch Dr. M. Knorst zugänglich gemacht werden<sup>[111,145]</sup>.



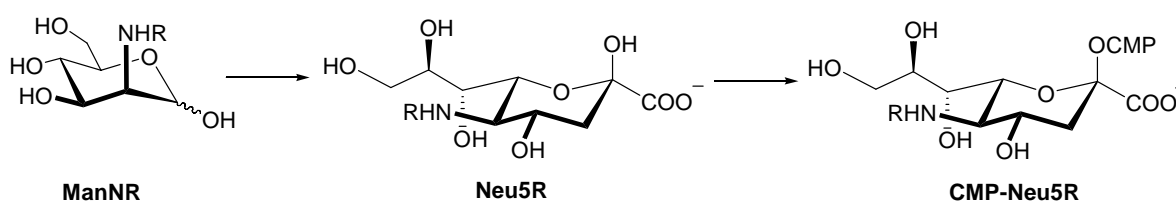
**Abb. 20:** Biosynthese von Sialokonjugaten.

Einige aktuellere Arbeiten berichten über den erfolgreichen Einsatz von CMP-Sialat-Synthasen auch aus *E. coli* bzw. *S. agalactiae* in der Synthese von Sialinsäurekonjugaten ausgehend von ManNAc-Derivaten mit anschließender Sialylübertragung in einer Eintopf-Reaktion<sup>[146-148]</sup>.

## II Zielsetzung

Die Fähigkeit, Eigenschaften von Zelloberflächen durch biochemische oder genetische Manipulationen zu verändern, verspricht neue Wege zum Studium von Zelloberflächen-Erkennungsmechanismen. Methoden des „*cell surface engeneering*“ ermöglichen die maßgeschneiderte chemische Rekonstruktion solcher Oberflächen. Einen Ansatz beinhaltet die metabolische Zuführung unnatürlicher „Reste“ auf Zelloberflächen-Konjugate über den Weg der Biosynthese von Oligosacchariden. Hierbei wird ein unnatürliches Monosaccharid über den normalen Weg der Biosynthese in die Zelloberfläche eingebaut<sup>[112]</sup>. Um jedoch den steigenden Bedarf der Sialokonjugate für biologische Studien zu decken, ist es notwendig, die entsprechenden Vorstufen in ausreichender Menge zur Verfügung zu stellen, da diese im Moment noch nicht über „*cell surface engeneering*“ in gewünschter Form zugänglich sind. Chemische sowie enzymatische Methoden sollen beim Aufbau der Sialinsäure-Derivate, deren Aktivierung und Übertragung auf Disaccharide angewendet werden.

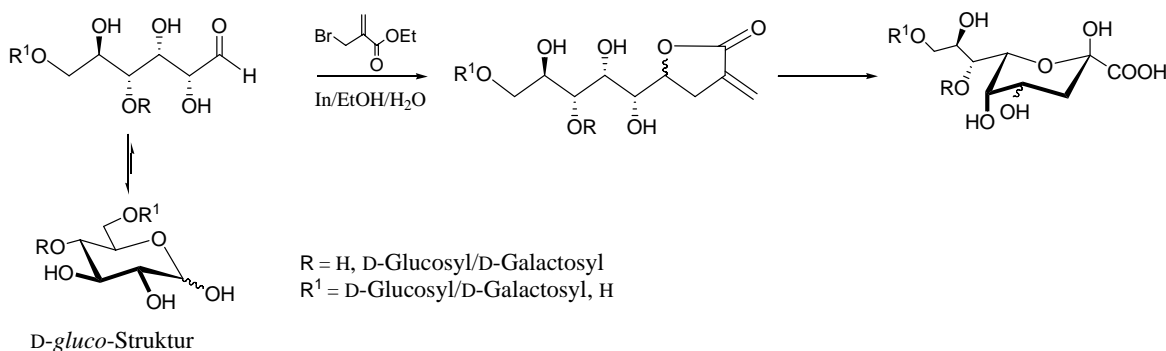
Aktivierte Zuckernucleotide, die mittels Glycosyltransferasen beim enzymatischen Aufbau komplexer Kohlenhydratstrukturen beteiligt sind, sind begrenzt verfügbar und relativ teuer. Die bei der Synthese sialinsäurehaltiger Glycokonjugate erforderliche CMP-Aktivierung der Sialinsäureanaloga benötigt CMP-Neu5Ac-Synthasen, die zwar kommerziell erhältlich sind, jedoch für den präparativen Einsatz aufgrund des hohen Preises den wirtschaftlichen Aspekt keinesfalls rechtfertigen würden. Hierbei gelang es Frau Dr. Knorst im Arbeitskreis eine neue rekombinante CMP-Neu5Ac-Synthetase aus *Neisseria meningitidis* Serogruppe B mit Hilfe eines hoch effektiven Überexpressionssystems in *E. coli* für synthetische Zwecke zur Verfügung zu stellen. Anschließende Untersuchungen zeigten eine interessante Substrattoleranz, deren weitere Grenzen durch Untersuchungen zu bestimmen waren. Von besonderem Interesse war es deshalb, ob auch stärker von der *N*-Acetylneuraminsäure als natürlichem Substrat abweichende Sialinsäure-Strukturen von dieser CMP-Sialat-Synthase noch als Substrate akzeptiert würden, um variantenreiche nicht-natürliche Sialokonjugate aufbauen zu können.



**Abb. 21:** Aufbau aktivierter Sialinsäureanaloge mittels enzymatischer Methoden

Als Grundvoraussetzung war daher die Synthese geeigneter, strukturell breit abgewandelter Sialinsäureanaloge gefragt. Zum einen sollten neben den bereits bekannten am Stickstoff modifizierten Sialinsäurestrukturen weitere nach bekannten chemischen Methoden aus D-Mannosamin geschaffen werden.

Darüber hinaus sollten, ausgehend von kommerziell erhältlichen Disacchariden, erstmalig mittels Indium-vermittelter Allylierung in wässrigem Milieu 7-O- bzw. 9-O-Zucker-modifizierte nicht-natürliche KDN-Derivate hergestellt werden, da eine enzymatische Route hier nicht möglich scheint (**Abb. 22**).



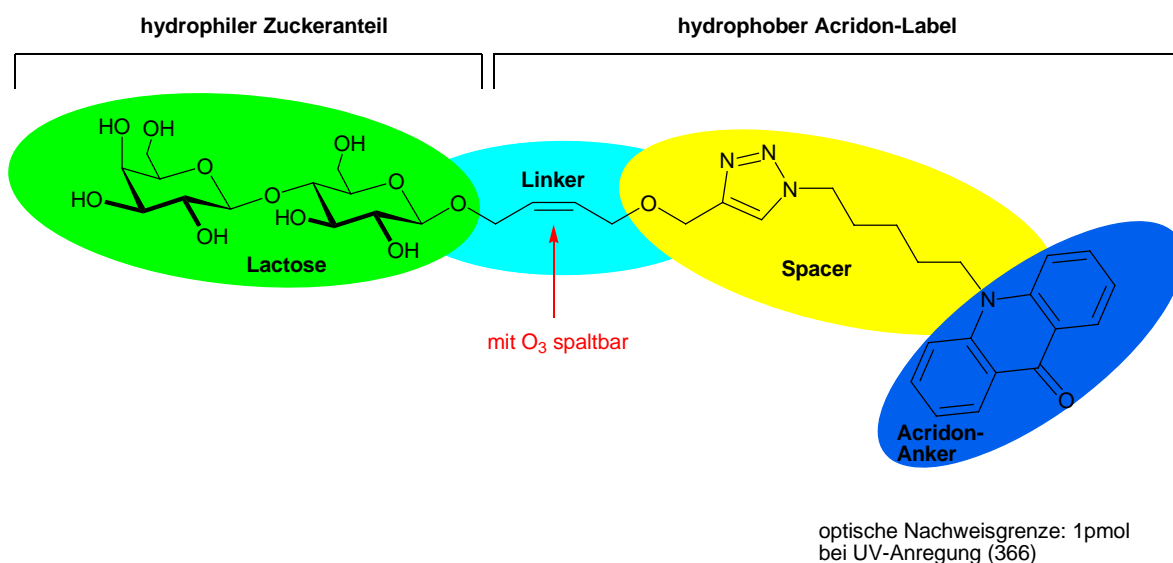
**Abb. 22:** Indium-vermittelte Synthese von Sialinsäureanaloge

Die entsprechenden Sialinsäurenanaloge sollten anschließend durch Umsetzungen mit der eigens im Arbeitskreis überexprimierten *N*-Acetylneuraminsäure-Lyase aus *N. meningitidis* gewonnen werden, wobei die Substrattoleranz weiterer ManN-substituierter Analoga überprüft werden sollte. Bei weniger substrattoleranten Mannose-Derivaten könnte die kommerziell erhältliche *N*-Acetylneuraminsäure-Aldolase eingesetzt werden.

Obwohl mittlerweile mehrere native und rekombinante Sialyltransferasen mit unterschiedlicher Akzeptorspezifität verfügbar und zum Teil über den Chemikalienhandel zu erhalten sind, ist ihr Preis für die präparative Herstellung von Oligosacchariden jedoch sehr hoch. Abhilfe sollte die im Arbeitskreis durch Dr. Jennewein zur Verfügung gestellte  $\alpha$ -2,3-Sialyltransferase verschaffen, einem rekombinanten Enzym aus *Campylobacter jejuni*, das im *E. coli* überexprimiert werden kann. Zum Testen neuartiger CMP-aktivierter Sialinsäurederivate in enzymatischen Sialylierungsreaktionen sowie für den hochempfindlichen Nachweis von Sialyltransferasen bietet sich an, neben *N*-Acetyl-lactosamin hochempfindliche detektierbare, mit einem Fluoreszenzchromophor markierte Akzeptorverbindungen einzusetzen.

Bei Vorarbeiten von Frau Dr. Knorst und Dr. Porzelle zeigte sich, dass vor allem Acridon als leicht zugänglicher und stabiler Fluoreszenz-Chromophor für die Synthese von markierten Akzeptorsubstanzen geeignet ist<sup>[145,149]</sup>.

Um das Problem der Reaktionskontrolle und Aufreinigung bei der enzymatischen Glycosylierungen zu umgehen, sollte somit durch die glycosidische Anknüpfung des hydrophoben Acridon-Linkers an den hydrophilen Zuckeranteil eine Strategie verfolgt werden, die es erlaubt, das gewünschte Produkt durch hydrophobe Wechselwirkungen an eine  $C_{18}$ -Reversed-Phase zu binden, um es nach Abtrennung von Puffersalzen, Enzymen und nicht umgesetzten Edukten durch anschließendes Waschen mit MeOH/Wasser in reiner Form isolieren zu können<sup>[150,151]</sup>. Hierbei sollte eine Acridon-Linker-Strategie verwendet werden, die eine möglichst milde Abspaltung des Linkers erlaubt und dabei gleichzeitig ein Reaktionszentrum für weitere Anknüpfungen wie Proteine oder Lipide schafft.



**Abb. 23:** Konzept für ein Lactose-Linker-Acridon-Konjugat zur Oligosaccharidsynthese

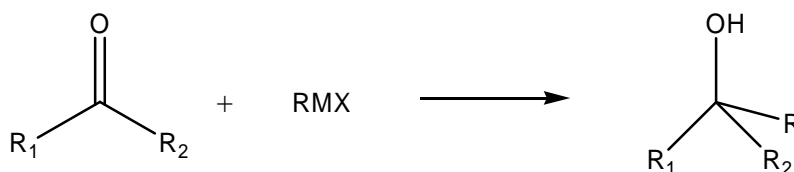
### III Allgemeiner Teil

## 3.1 Indium-vermittelte, wässrige Allylierung vom Barbier-Typ

### 3.1.1 Einleitung

C-C-Verknüpfungen sind mit die wichtigsten Prozesse in der organischen Chemie. Ein breites Spektrum verschiedener Syntheseprotokolle zur Effektivitätssteigerung bestehender Methoden sowie neuere Entwicklungen zeugen von dem großen Interesse an diesen Operationen. Additionsreaktionen mit organometallischen Nucleophilen spielen hierbei eine besondere Rolle. Seit der Entdeckung der Synthese des Diethylzinks aus Iodethan und Zink durch *Frankland* im Jahre 1849<sup>[152]</sup> sind eine Vielzahl organometallischer Reagenzien hergestellt und auf ihre potentielle Verwendbarkeit für organische Synthesen untersucht worden. Die Entdeckungen von *Reformatsky*<sup>[153]</sup>, *Barbier*<sup>[154]</sup>, *Grignard*<sup>[155]</sup> und *Gilman*<sup>[156]</sup> sind einige der Meilensteine dieser Entwicklung.

In ihrer allgemeinen Form fungieren organometallische Reagenzien als Nucleophile. Ist das Electrophil eine Carbonylverbidung, so bezeichnet man diese Reaktion als eine Barbier-Grignard-Reaktion (**Abb. 24**). Die Generierung organometallischer Reagentien kann entweder *in situ* (*Barbier*) oder stufenweise (*Grignard*) erfolgen.



**Abb. 24:** Barbier-Grignard-Reaktion

Neben der Verwendung der allgemein bekannten Allylmagnesium-Verbindungen sind in letzter Zeit eine Reihe weiterer allylischer Metallorganyle, wie z.B. Si-, Ti-, B-Verbindungen, synthetisiert und intensiv untersucht worden<sup>[157-160]</sup>. Ein wesentlicher Nachteil all dieser Verbindungen ist ihre Hydrolyseempfindlichkeit, was für den speziellen Einsatz in der Kohlenhydratchemie einen elementaren Nachteil mit sich bringt. Diese Hydrolyseempfindlichkeit erfordert zum einen die Verwendung von aprotischen Solventien und zum anderem den Einsatz von Schutzgruppentechniken.

Andererseits erwiesen sich einige Organometallverbindungen auch in Anwesenheit von Wasser als überlebensfähig. Die Synthese von Aryl-Quecksilberchloriden ist seit 1905 bekannt<sup>[161]</sup>. Auch in den 1960'ern konnte Tribenzylzinnchlorid in Wasser in größeren Mengen hergestellt werden<sup>[162]</sup>. Die reduktive Kupplung von Allylhalogeniden nach Wurtz findet ebenso im wässrigen Medium statt<sup>[163]</sup>.

Basierend auf den Erkenntnissen von *Wolinsky*<sup>[164]</sup>, der 1977 die erste erfolgreiche Barbier-Typ-Allylierung von Carbonylverbindungen im protischem Milieu (95% EtOH) durch Verwendung von Zink und Allylbromid erzielen konnte, folgte eine Reihe von Arbeiten, die das große Synthesepotential einer Reihe verschiedener Metall-Mediatoren im Wässrigem weiterentwickelte<sup>[165-169]</sup>. Zu diesen gehören Zink, Zinn, Wismut, Blei, Cadmium und Indium, die als „weiche“ Metalle nicht vom „harten“ Solvens Wasser angegriffen werden.

Was macht jedoch Indium in der organischen Synthese so attraktiv? Seit 1988, als *Araki et al.* Indium erstmalig als einen Metall-Mediator in einer Barbier-Typ-Addition von Allylbromid und einer Carbonyl-Komponente einsetzte<sup>[170]</sup>, hat Indium ein großes Interesse verschiedener Arbeitsgruppen geweckt, wobei beachtliche Erfolge in der Entwicklung neuer Synthesemethoden erzielt worden sind. Aber nicht nur ausschließlich Barbier-Typ-Additionen von Allylreagenzien an eine Vielzahl von elektrophilen funktionellen Gruppen machen das Indium so wertvoll, sondern auch als Reagenz z.B. in Reduktionen und Cyclopropanierungen<sup>[171-183]</sup>.

Eine der besonderen Eigenschaften, wodurch sich Indium von seinen Mitkonkurrenten wie Zink, Zinn oder auch anderen Metallen bei gleichen Reaktionsbedingungen unterscheidet, ist das relativ niedrige Reduktionspotential, was es zu einem sehr selektiven Reagenz macht<sup>[184]</sup> (**Tabelle 2**).

**Tabelle 2:** Reduktionspotentiale einiger Metalle; gemessen gegen eine Standard-Wasserstoffelektrode bei 25°C<sup>[185]</sup>

Redox-Gleichgewicht	$\varepsilon_0$ (V)
$\text{Mg} \rightleftharpoons \text{Mg}^{2+} + 2\text{e}^-$	-2.356
$\text{Al} \rightleftharpoons \text{Al}^{3+} + 3\text{e}^-$	-1.676
$\text{Zn} \rightleftharpoons \text{Zn}^{2+} + 2\text{e}^-$	-0.763
$\text{Sn} \rightleftharpoons \text{Sn}^{2+} + 2\text{e}^-$	-0.136
$\text{In} \rightleftharpoons \text{In}^{3+} + 3\text{e}^-$	-0.338

Weiterhin verhält sich Indium im Gegensatz zu Alkalimetallen sogar in Laugen und siedendem Wasser inert und bildet an der Luft keine Oxide<sup>[186-188]</sup>.

Um befriedigende Reaktionsgeschwindigkeiten erzielen zu können, benötigen z. B. Zink vermittelte Allylierungen in der Regel eine zusätzliche Oberflächenaktivierung in Form von Säurezusatz (HCl, HBr oder NH<sub>4</sub>Cl), Temperaturerhöhung oder mittels Ultraschall. Die sonochemische Unterstützung ist letztendlich auf das damit verbundene Erosionsphänomen zurückzuführen, welches eventuell vorhandene passivierende Oxidschichten oder Verunreinigungen von der Metalloberfläche ablöst und somit neue reaktive Zentren zur Verfügung stellt<sup>[189-191]</sup>. Darüber hinaus ist Indium an sich nicht toxisch und findet durchaus Anwendung in der Zahnmedizin als Metalllegierung<sup>[177]</sup>.

Jedoch besitzt Indium wie auch einige andere Metalle Eigenschaften, die sich stark zu widersprechen scheinen. Obwohl die meisten Indium-Alkyl-Komponenten sehr heftig mit Wasser reagieren, würden Reaktionen vom Barbier-Typ vorzugsweise in Wasser oder wässrigen Medium durchgeführt, ohne Hydrolyse der putativen Indium-Alkyl-Intermediate zu beobachten. Dieser Sachverhalt lässt sich dadurch erklären, dass entweder hydrolysierbare Indium-Alkyl-Organyle nicht als Intermediate in entsprechenden Reaktionen vorkommen, oder sie werden an der Oberfläche des Indiummetalls im Zusammenspiel mit dem entsprechenden elektrophilen Substrat gebildet. Diese Widersprüchlichkeit könnte mit dem *single electron transfer (SET)*-Mechanismus erklärt werden, wobei man ursprünglich keine Beweise für einen solchen Reaktionstyp liefern konnte. *SET*-Reaktionen würden vom niedrigen Ionisierungspotential des Indiums im Vergleich zu seinen Mitkonkurrenten stark favorisiert werden (**Tabelle 3**).

**Tabelle 3:** Ionisierungspotentiale einiger Metalle<sup>[184]</sup>

Metall	Ionisierungspotential (V)			
	I	II	III	IV
Indium	5.79	18.86	28.03	-
Aluminium	5.98	18.82	28.44	-
Magnesium	7.65	15.03	-	-
Zink	9.39	17.96	-	-
Zinn	7.34	14.63	30.49	40.72



Einige aktuellere Arbeiten vom *Naito*<sup>[192]</sup> schlagen Indium als einen hervorragenden Kandidaten als Initiator für Radikal-Reaktionen via *SET*-Prozess vor. Im Mittelpunkt des Interesses dürfte die Tatsache sein, dass diese Art von Reaktionen ebenso in Wasser bzw. wässrigem Milieu stattfinden kann.

Ansichts aktueller ökologischer und ökonomischer Ansprüche bieten Indium-vermittelte Reaktionen in Wasser mehrere Vorteile, zum einen Verzicht auf entzündliche oder toxische Lösungsmittel, zum anderem auch der direkte Einsatz wasserlöslicher Verbindungen mit Umgehung der Schutzgruppenmanipulation vor allem bei Kohlenhydraten. Dies kann die Effizienz der Methodik beträchtlich steigern und rechtfertigt die Kosten des Indiums.

Während besonders Aldehyde (aber auch Ketone) gute Substrate für die Indium-vermittelte Barbier-Typ-Allylierung darstellen, verhalten sich weniger elektrophile funktionelle Gruppen wie Ester-, Carboxy- oder Amidgruppen völlig inert<sup>[169,187,193]</sup>. Auf Grund der Tatsache, dass Indium-vermittelte Allyladditionen unter milden Reaktionsbedingungen durchführbar sind, stellt diese Form der Allylierung in protischen Lösungsmittelsystemen ein ideales Werkzeug für die Kohlenhydratchemie dar. Hiermit kann ein entscheidender Vorteil, nämlich der Verzicht auf Schutzgruppen-Manipulation, zum Tragen kommen. Paradebeispiele dieser Methodik sind die Synthesen von 3-Desoxy-D-*glycero*-D-*galacto*-2-nonulosonsäure (KDN)<sup>[194-196]</sup>, N-Acetylneuraminsäure (Neu5Ac)<sup>[195,197]</sup> sowie 3-Desoxy-D-*manno*-2-oculosonsäure (KDO)<sup>[198]</sup>.

Indium-vermittelte Allylübertragungen zeichnen sich durch hohe chemische Ausbeuten sowie gute Stereo- und Regioselektivität aus. Allerdings birgt neben den erwähnten Vorteilen die Verwendung des Indiums auch gewisse Schwierigkeiten. So ist die Abtrennung der im Reaktionsverlauf gebildeten gut wasserlöslichen Indiumsalze von den in der Regel ebenfalls gut wasserlöslichen Produkten nicht unproblematisch<sup>[199]</sup>. Neben herkömmlichen Aufarbeitungsmethoden wie Chromatographie, Filtration über Filterhilfsmittel oder Zentrifugation der Indiumsalze<sup>[197,199]</sup>, die teils nur partiell indiumfreie Produkte liefern, bietet die Acetylierung der vorgereinigten Produkte mit anschließender Chromatographie nur in speziellen Fällen Abhilfe, da einer der entscheidenden elementaren Vorteile der Barbier-artigen Allylierung im Wässrigem verloren geht, nämlich der Verzicht auf Schutzgruppenmanipulation.

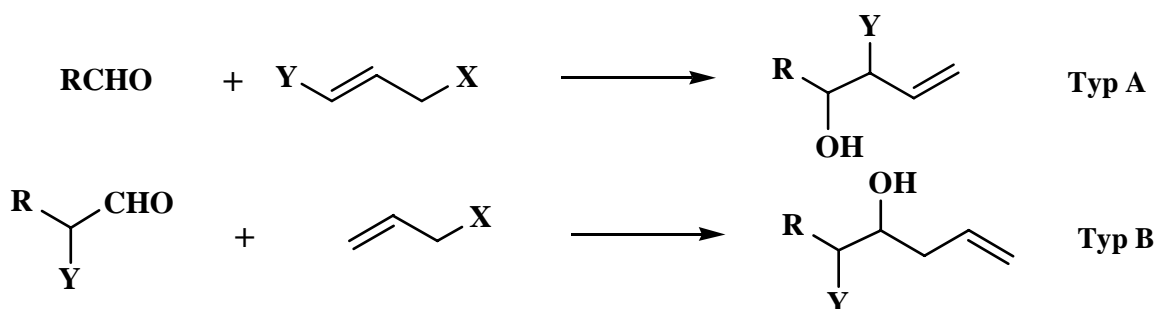
Am Beispiel der Indium-vermittelten Addition von Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat an D-Mannose wurden von *Warwel*<sup>[118]</sup> mögliche Reinigungsmethoden wie Filtration, Zentrifugation und Ionenaustauschchromatographie vergleichend untersucht. Im Hinblick auf die ähnlichen Eigenschaften des dreiwertigen Indiums zum homologen Aluminium, besonders

in wässriger Lösung, wurde der Alizarin S-Farblack-Test angewandt. Das Alizarin S-Nachweisreagenz (Na-salz der 1,2-Dihydroxyanthrachinonsulfonsäure) bildet mit  $\text{In}^{3+}$  einen hellroten, in verdünnter Essigsäure schwerlöslichen Farblack, während die rotviolette Färbung der ammoniakalischen Alizarinlösung beim Ansäuern in gelb umschlägt<sup>[201]</sup>. Die Erfassungsgrenze des Alizarin S-Nachweisreagenzes liegt bei  $0.5 \mu\text{g}$  für  $\text{Al}^{3+}$ <sup>[202]</sup>. Eine analoge Nachweisempfindlichkeit konnte durch entsprechende Verdünnungsreihen auch für  $\text{In}^{3+}$  bestimmt werden.

Während bei Verwendung von Kieselgel, Kieselgur oder Aktivkohle als Filter- und Aufreinigungsmittel keine Indium-freien Produkte erhalten werden konnten, war Bindung an Kationentauscher plausibel. Hierbei konnte in Homologie zum Aluminium durch Zugabe von Phosphatpuffer im Neutralen zuerst die Fällung als Indiumphosphat erzielt werden und nach anschließender Zentrifugation und Filtration des Überstands über Ionentauscher das gewünschte Produkt Indium-frei und in hoher Ausbeute erhalten werden<sup>[196]</sup>.

### 3.1.2 Diastereoselektivität der Indium-vermittelten Allylierung

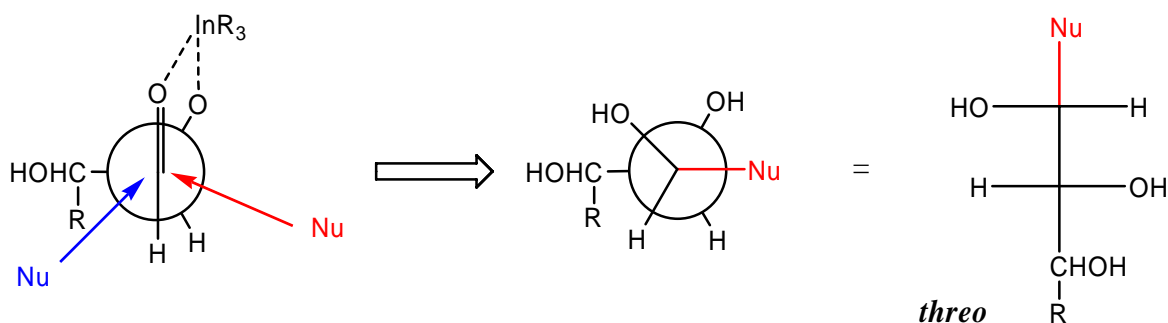
Bezüglich der Diastereoselektivität sind zwei Standardtypen zu beachten (**Abb. 25**). Beim Typ A hängt die Diastereoselektivität vor allem von den Aldehyd- und Allyl-halogenidsubstituenten ab. Darüber hinaus spielt der sterische Anspruch der Substituenten am Aldehyd eine wichtige Rolle. Mit zunehmender Größe ist eine Zunahme der *anti*-Diastereoselektivität zu beobachten. *Chan et al.* begründen dies mit einem Übergangszustand der Allylindium-Spezies und der Carbonylverbindung vom *Zimmermann-Typ*<sup>[203]</sup>.



**Abb. 25:** Standardtypen der diastereoselektiven Reaktionen.

Im Falle von Typ **B** hängt die *syn(erythro)*- oder *anti(threo)*-Diastereoselektivität von den Eigenschaften der  $\alpha$ -Substituenten ab. Die Anwesenheit einer eindeutig Chelat-induzierenden Gruppe wie der Hydroxylfunktion führt allgemein zum *anti(threo)*-Produkt, wobei eine nicht-komplexfähige Gruppe wie z. B. ein Methyl-Substituent vorwiegend das *syn(erythro)*-Produkt ergibt. Auch die Anwesenheit einer  $\alpha$ -Alkoxy-Gruppe als schwach komplexierende Gruppe ergab in Untersuchungen wäßriger organometallischer Reaktionen ein *anti*-Chelat-Produkt.<sup>[177]</sup>

Beim Einsatz ungeschützter Kohlenhydrate liefert die Allyladdition einen Homoallylalkohol mit einem neuen Chiralitätszentrum, wobei das *threo*-konfigurierte Produkt bevorzugt gebildet wird.<sup>[186,204]</sup> Das Cramsche Chelat-Modell<sup>[205-208]</sup> kann zur Klärung der asymmetrischen Induktion herangezogen werden. Über ein vorgelagertes Gleichgewicht kann sich ein Chelat-Komplex ausbilden, der seine Beweglichkeit bezüglich der 1,2-Achse verloren hat und von der sterisch weniger gehinderten Seite unter Ausbildung des *anti*-Cram-Produkts mit *threo*-Konfiguration angegriffen wird.

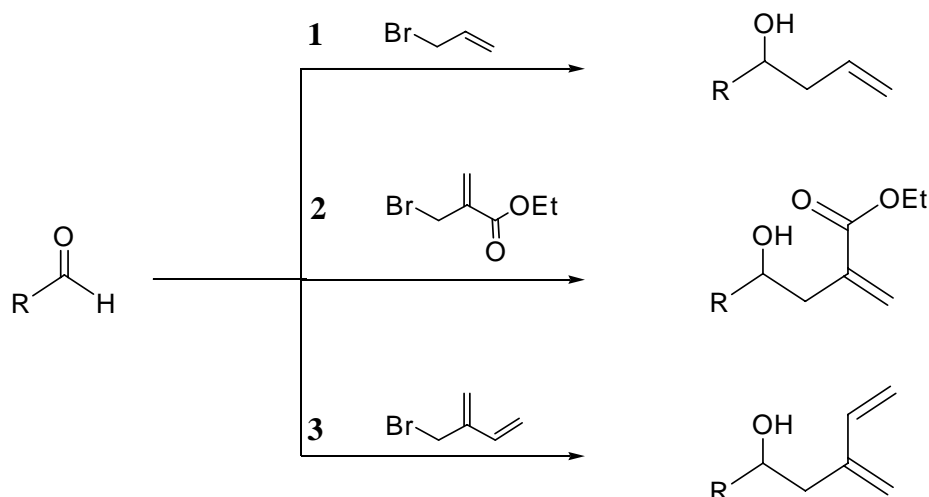


**Abb. 26:** Asymmetrische Induktion bei  $\alpha$ -Hydroxycarbonylverbindungen

Enthält die eingesetzte Carbonylverbindung zusätzliche Chiralitätszentren, so stehen die beiden Halbräume der Carbonylgruppe in diastereotopem Verhältnis zueinander. Das Allylnucleophil kann sowohl von der *Re*- als auch von der *Si*-Seite angreifen. Die dabei durchlaufenen diastereotopen Übergangszustände besitzen unterschiedliche Energien, was zu einer ungleichen Verteilung der Diastereomeren führt (**Abb. 26**). Zur Erzielung der *erythro*-Selektivität ist eine Modifizierung der Carbonylverbindung so vorzunehmen, dass die Bildung eines cyclischen Chelats verhindert wird<sup>[209]</sup>.

### 3.1.3 Indium-vermittelte Allylierung von Kohlenhydraten

Im Rahmen der eigenen Untersuchungen zur Übertragung von Allylfragmenten mittels Indium-Vermittlung im Wässrigen wurden grundsätzlich drei Routen verfolgt. Zum einen wurden für die methodischen Anfangsuntersuchungen mit dem günstigen AllBr endständige Alkene synthetisiert. Diese dienen im Falle der kettenverlängerten Kohlenhydrate z. B. als Vorstufen von 2-Desoxy-Komponenten. Die zweite Route wurde nach der bereits erfolgreich durchgeführten chemischen Synthese von KDN und Neu5Ac unter In-Vermittlung als Synthesepool für weitere Vorstufen von Sialinsäureanaloga gewählt. Als dritte Route wurde die Allylierung mit Bromisopren durchgeführt. Die entstehenden Produkte bilden z. B. ideale wasserlösliche Diene für Diels-Alder-Reaktionen.



**Abb. 27:** Indium-vermittelte Allylübertragung

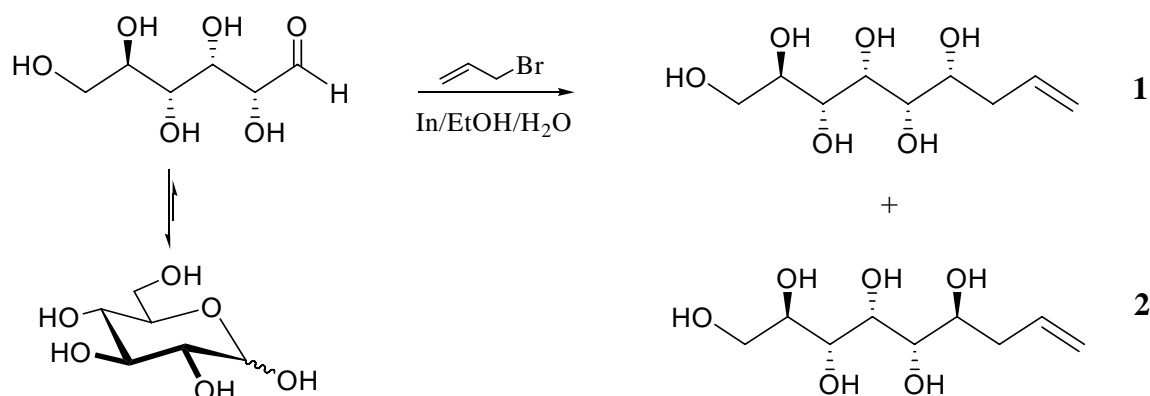
### 3.1.4 Allylierung von Aldosen mit Allylbromid

Seit über einem Jahrhundert ist man bestrebt, kettenverlängernde Reaktionen an ungeschützten Aldosen mit einer gerichteten Diastereoselektivität durchzuführen. Die klassische Methode der Verlängerung um ein C-Atom beinhaltet die Addition von HCN oder  $CH_3NO_2$  an die Carbonylfunktion einer Aldose<sup>[210]</sup>. Die Verlängerung um zwei C-Atome ungeschützter Aldosen gelingt durch die Kombination einer Wittig-Reaktion mit einer

diastereokontrollierten Dihydroxylierung<sup>[211]</sup>. Kettenverlängerungen von drei C-Atome gelingen durch Zink- bzw. Indium-Mediation im Wässrigen mit Allylbromid. Ausgehend aus den Arbeiten von Whitesides<sup>[187]</sup> und Schmid<sup>[204]</sup> sollten entsprechend den literaturbekannten Umsetzungen von D-Glucose (63% Ausbeute; *threo/erythro* 5:1, **Abb. 25**) und D-Mannose (72% Ausbeute; *threo/erythro* 5:1) die jeweiligen beiden diastereomeren Allylierungsprodukte in hoher Ausbeute zugänglich sein.

Die beobachtete asymmetrische Induktion wird hierbei durch die Ausbildung eines fünfgliedrigen Chelats zwischen dem Allyl-Indium-Reagenz und D-Glucose (Aldehydsauerstoff und  $\alpha$ -Hydroxygruppe) auf Grundlage des Cram'schen Chelat-Modells erklärt.

Basierend auf den literaturbekannten Umsetzungen an D-Mannose und D-Glucose sollten neben der Reproduktion dieser Ergebnisse auch D-Galactose und erstmals auch kommerziell erhältliche Disaccharide für die Allylierung eingesetzt werden.



**Abb. 28:** Indium-vermittelte Allylierung von D-Glucose unter neutralen Bedingungen

Ausgehend von der Annahme, dass der elektrophile Charakter einer Aldehyd-Funktion durch Protonierung erhöht wird und somit deutlich verkürzte Reaktionszeiten zu erwarten sind, wurden entsprechende Umsetzungen sowohl im Wässrigen (EtOH/Wasser 4:1) als auch in einem aciden Lösungsmittelsystem (EtOH/0.1 M HCl 6:1) durchgeführt.

Voruntersuchungen zeigten, dass bei sonochemischer Behandlung im Ultraschallbad wesentlich schnellere Umsetzungen zu beobachten sind als bei einfachem Rühren. Leichte Temperaturerhöhungen des Reaktionsgemischs bei Behandlung im Ultraschallbad (Wassertemperatur bis 50°C) erwiesen sich als vorteilhaft, waren jedoch nicht zwingend. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die drei Monosaccharide D-Glucose, D-Mannose und D-Galactose ausschließlich im Ultraschallbad behandelt.

Versetzt man den entsprechenden Zucker mit AllBr und In im Lösemittelsystem **A** oder **B**, so beobachtet man bereits nach 5-6 h vollständigen Umsatz von D-Mannose und D-Galactose. Im Falle von D-Glucose war ca. 44 h Behandlung erforderlich, bis vollständiger Umsatz festzustellen war. Bei längeren Umsatzzeiten ist es sinnvoll, AllBr und In portionsweise zuzugeben, da vor allem AllBr als leichtflüchtige Komponente beim Erwärmen im Ultraschallbads teilweise entweicht. Allgemein verlaufen die Reaktionen bei einem Überschuss der Reagenzien von 2-4 Äquivalenten vollständig, wobei eine Erhöhung meist auch eine verbesserte Ausbeute mit sich bringt. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 4** zusammengefasst.

**Tabelle 4:** Allylierung von Monosacchariden mit AllBr

Monosaccharid	Lösemittel	AllBr (Äq.)	In (Äq.)	Reaktions- dauer	Diastereomeren- verhältnis <i>threo/erythro</i>	Ausbeute %	Produkt
						(isoliert)	
D-Glucose	<b>A</b>	3	3	44 h	5:1	91	<b>1/2</b>
	<b>B</b>	3	3	44 h	5:1	94	
D-Mannose	<b>A</b>	2	2	5.5 h	6:1	89	<b>5/6</b>
	<b>B</b>	3	3	6 h	6:1	91	
D-Galactose	<b>A</b>	4	4	5 h	8:1	79	<b>9/10</b>
	<b>B</b>	2	2	5 h	8:1	90	
	<b>B</b>	4	4	5 h	8:1	95	

**A:** EtOH/Wasser 4:1. **B:** EtOH/0.1 M HCl 4:1

Interessanterweise wurden zwischen den beiden Lösungsmittelsystemen EtOH/Wasser und EtOH/0.1 M HCl keine signifikanten Unterschiede beobachtet, lediglich leichte Ausbeuteerhöhungen waren im Säuren festzustellen. Einen Einfluss auf das Diastereomerenverhältnis hatte dies jedoch nicht. Das Diastereomerenverhältnis scheint zuckerspezifisch zu sein. Während bei der Umsetzung von Glucose ein Verhältnis von 5:1 bestimmt wurde, konnte eine leichte Erhöhung der Selektivität bei Mannose von 6:1 und Galactose von 8:1 beobachtet werden. Die Bestimmung der Diastereomerenverhältnisse erfolgte mittels  $^1\text{H}$ -NMR über die Integralverhältnisse der in Nachbarschaft zum neu generierten Stereozentrum befindlichen Methylenprotonen. In Abhängigkeit vom jeweiligen Diastereomer zeigen diese diastereotopen

Protonen eine unterschiedliche chemische Verschiebung. Eine endgültige Aussage über die absolute Konfiguration der neu entstandenen offenkettigen Produkte lässt sich erst nach der Ozonolyse und der anschließenden Charakterisierung des Hauptprodukts in der pyranoiden Form machen. Aus früheren Untersuchungen von *Whitesides* und *Schmid* kann jedoch angenommen werden, dass es sich beim Hauptdiastereomer um ein Produkt mit *threo*-Konfiguration handelt.

Der Versuch, die erhaltenen Allylierungsprodukte zu acetylieren und die Diastereomere anschließend chromatographisch zu trennen, scheiterte an den zu ähnlichen  $R_f$ -Werten. Das entsprechende Diastereomergemisch mit unverändertem Stereoisomeren-Verhältnis wurde nach Säulenchromatographie zurück isoliert.

Auffallend bei der Allylierung der Monosaccharide ist die wesentlich längere Reaktionszeit der D-Glucose im Vergleich zu D-Mannose und D-Galactose. Obwohl man annehmen könnte, dass der Anteil der offenkettigen Form des Aldehyds von Bedeutung sein könnte (**Tabelle 4**), geben die Daten lediglich Auskunft über die thermodynamische Stabilität der einzelnen Isomere.

**Tabelle 4:** Prozentuelle Zusammensetzung der Tautomeren in Wasser<sup>[212]</sup>

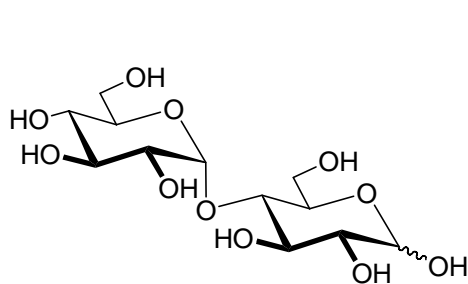
Monosaccharid	Temperatur (°C)	Pyranose		Furanose		Aldehyd
		$\alpha$	$\beta$	$\alpha$	$\beta$	
D-Glucose	27	38.8	60.9	0.14	0.15	0.0024
	31	38.0	62.0	-	0.14	0.02
D-Mannose	21	68.0	32.0	-	-	-
	44	64.9	34.2	0.6	0.3	0.005
D-Galactose	31	30	64	2.5	3.5	0.02

Eine plausible Erklärung liefert dagegen die Kinetik der Mutarotation: bei diesem Vorgang handelt es sich um die Umwandlung der einzelnen Anomere ineinander, wobei die offenkettige Aldehyd-Form durchlaufen wird und diese beim nucleophilen Angriff des In-Intermediats zum Allyladdukt abreagieren kann. Verläuft die Einstellung des Gleichgewichts relativ zügig, wie im Fall der Mannose oder Galactose, so ist mit vollständigem Umsatz nach kurzer Zeit zu rechnen. Verläuft die Mutarotation dagegen mit einer geringeren Geschwindigkeit, sind längere Umsatzzeiten zu verbuchen. Dieser Sachverhalt könnte mit der

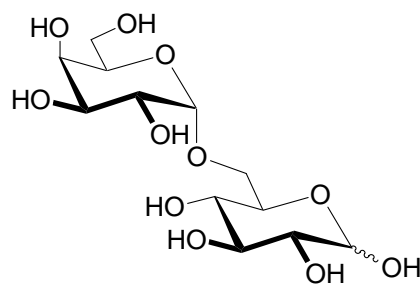
relativen Stabilität einer Pyranose, die durch die Position der Substituenten am Pyranose-Ring wesentlich beeinflusst wird, erläutert werden. Geht man also von der D-Glucose mit 3 ( $\alpha$ -Anomer) bzw. 4 ( $\beta$ -Anomer) äquatorial angeordneten OH-Substituenten aus, so wirkt sich diese Anordnung der Substituenten energetisch günstiger aus und ist somit den anderen, die im Pyranose-Ring axial angeordnete Substituenten haben, überlegen. Wie bereits frühere Untersuchungen von *Angyal* zeigten, bedeutet jeder axiale Substituent am Pyranose-Ring eine Destabilisierung am Pyranose-Ring<sup>[212]</sup> (ausgenommen anomerer Effekt). Das Vorhandensein einer axialen OH-Gruppe am C-2 der D-Mannose bzw. C-4 der D-Galactose würde somit einen destabilisierenden Effekt ausüben und die Mutarotationskinetik beeinflussen, was sich letztendlich an der Geschwindigkeit der Einstellung des Gleichgewichts bemerkbar macht.

Aufbauend auf den Ergebnissen der Allylierung von Monosacchariden wurden nun erstmalig 6 kommerziell erhältliche Disaccharide eingesetzt. Hierbei handelt es sich um die  $\alpha$ -verknüpften Disaccharide Maltose (1 $\rightarrow$ 4), Melibiose (1 $\rightarrow$ 6) und Isomaltose (1 $\rightarrow$ 6), und die  $\beta$ -verknüpften Lactose (1 $\rightarrow$ 4), Cellobiose (1 $\rightarrow$ 4) und Gentibiose (1 $\rightarrow$ 6) (**Abb. 28**), deren gemeinsames Merkmal die *gluco*-Konfiguration als reduzierendes Ende ist. Angesichts der Tatsache, dass Disaccharide auf Grund ihrer glycosidischen Bindung hydrolyselabil sind, galt es, besondere Vorsicht bei der Wahl der Reaktionsbedingungen walten zu lassen. Zuerst wurde anhand von D-Maltose die Hydrolysestabilität getestet. Zuckerlösungen in 1 N, 0.5 N, 0.25 N und 0.1 N HCl zeigten bei Raumtemperatur auch nach 2 d Rühren keine Hinweise auf Hydrolyseprodukte, lediglich in 2 N HCl war das Auftreten von Glucose (ca. 50-70% Umsatz) zu beobachten. Wurden diese Mischungen jedoch auf 50°C erwärmt, so war bei den höheren HCl-Konzentrationen bereits nach 3 h vollständige Hydrolyse eingetreten; mit abnehmender Säurekonzentration war allerdings die Abnahme der Hydrolyseaktivität zu beobachten. Somit konnte gezeigt werden, dass Disaccharide prinzipiell auch noch unter leicht sauren Bedingungen für die Allylierung unter In-Vermittlung geeignet sind.

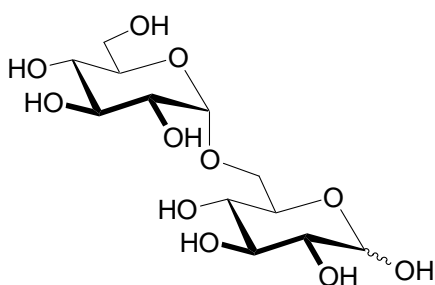




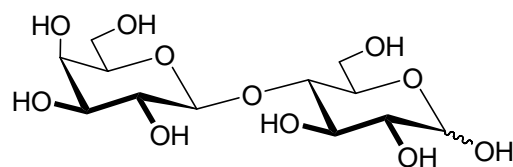
D-Maltose



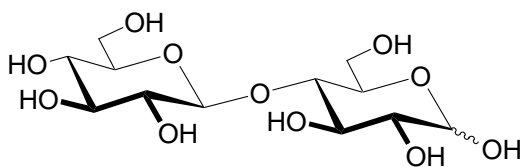
D-Melibiose



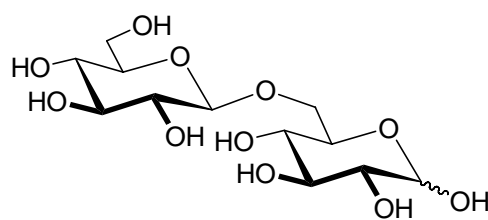
D-Isomaltose



D-Lactose



D-Cellobiose

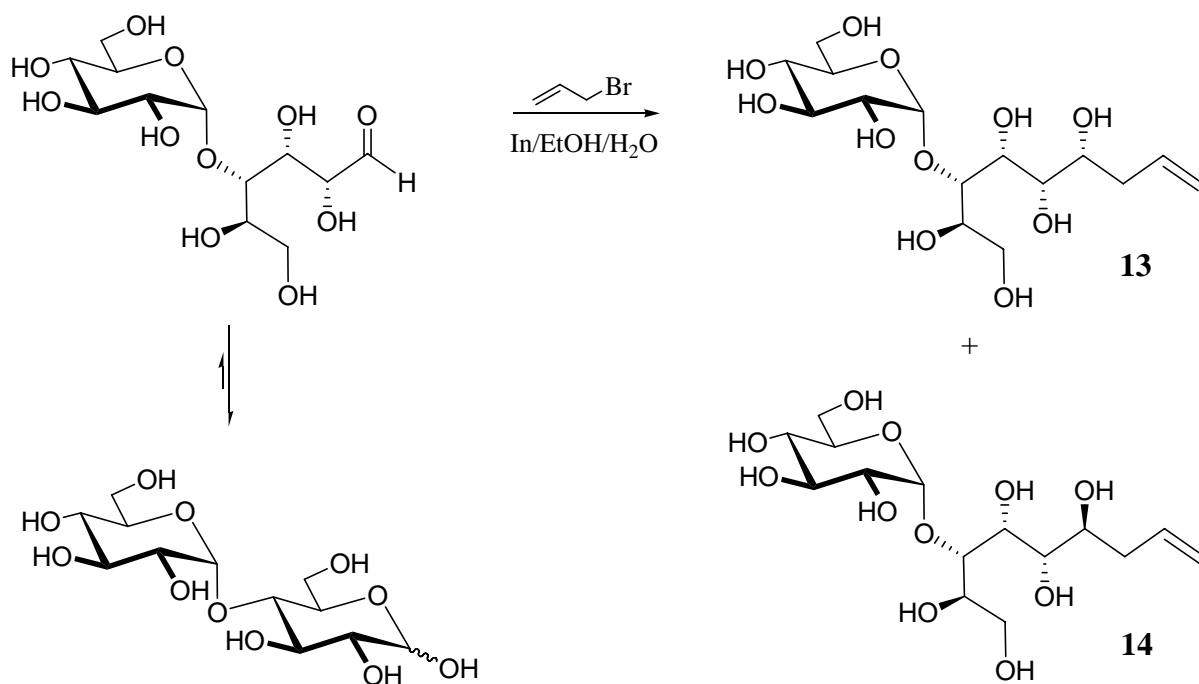


D-Gentibiose

**Abb. 29:** Für die Studie verwendete Disaccharide

Anfängliche Untersuchungen zur konventionellen Allyladdition an Maltose zeigten bald, dass signifikant längere Reaktionszeiten bis zum vollständigen Umsatz (8 d) sowie ein deutlich höherer Überschuss an  $\text{AlI}^+\text{Br}^-$  (18 Äq.) und  $\text{In}$  (7 Äq.) benötigt wurden (**Abb. 30**). Hierbei stellte sich auch heraus, dass eine Erhöhung der Reaktionstemperatur für präparativ handhabbare Umsetzungen unerlässlich ist. Reaktionen bei Raumtemperatur zeigten trotz der verlängerten Reaktionszeiten nur unbefriedigenden Umsatz. Eine portionsweise Dosierung der Reagenzien musste wegen der Flüchtigkeit von  $\text{AlI}^+\text{Br}^-$  vorgenommen werden. Zu großer anfänglicher Überschuss an Indium führte zum Verklumpen des Metalls und somit zu einer deutlichen Senkung der Umsatzgeschwindigkeit. Daher wurde neben einfachem Rühren bei

50°C vergleichsweise auch die Ultraschallmethode angewendet. Im Unterschied zu den Monosacchariden (100 mM) wurde außerdem in verdünnten Lösungen gearbeitet (20-40 mM), nachdem bei höheren Konzentrationen durch ausfallende Salze eine zunehmende Inhomogenität des Reaktionsgemisches zu beobachten war, was den weiteren Umsatz stark beeinträchtigt. Durch Zugabe von ausreichenden Lösungsmittelmengen wird somit eine ausreichende Durchmischung gewährleistet.



**Abb. 30:** Indium-vermittelte Allylierung von D-Maltose unter neutralen Bedingungen

Wie aus **Tabelle 5** zu entnehmen ist, weisen die einzelnen Disaccharide jedoch unterschiedliches Verhalten bezüglich nötigem Reagenzüberschuss und Reaktionsdauer auf. So gelingt die Umsetzung von Melibiose zu **17/18** mit relativ wenig Reagenzüberschuss in nur 22 h mit einer nahezu quantitativen Ausbeute. Dagegen gestaltete sich die vollständige Umsetzung von Isomaltose zu **21/22** trotz identischer Reaktionsbedingungen als äußerst zäh. Erst nach 19 d und ständigem Zudosieren von  $\text{AlI}_3$  und  $\text{In}$  gelang letztendlich die vollständige Umsetzung. Im Fall von Lactose wurde bei einem hohen Überschuss an Reagenz und einer Woche Reaktionszeit kein signifikanter Unterschied in der Bildung von **23/24** zwischen  $\text{EtOH}$ /Wasser und dem  $\text{EtOH}/0.1 \text{ N HCl}$ -System festgestellt. Es wurden jedoch in beiden Fällen die höchste Ausbeute erzielt. Bei der Umsetzung von Cellobiose bzw. Gentibiose war der vollständige Umsatz nach 6 bzw. 4 d festzustellen. Die Ausbeuten lagen jedoch bei vollständigem Umsatz mit 64 und 70 % unter dem Niveau der vorhergehenden Zucker. Die Ursache für den Ausbeuteverlust könnte in der Aufarbeitung liegen, wobei ein

Teil des Produkts im Salzniederschlag verbleiben könnte. Auf eine Optimierung der Ausbeutesteigerung wurde jedoch in diesem Fall verzichtet.

**Tabelle 5:** Allylierung von Disacchariden mit AllBr.

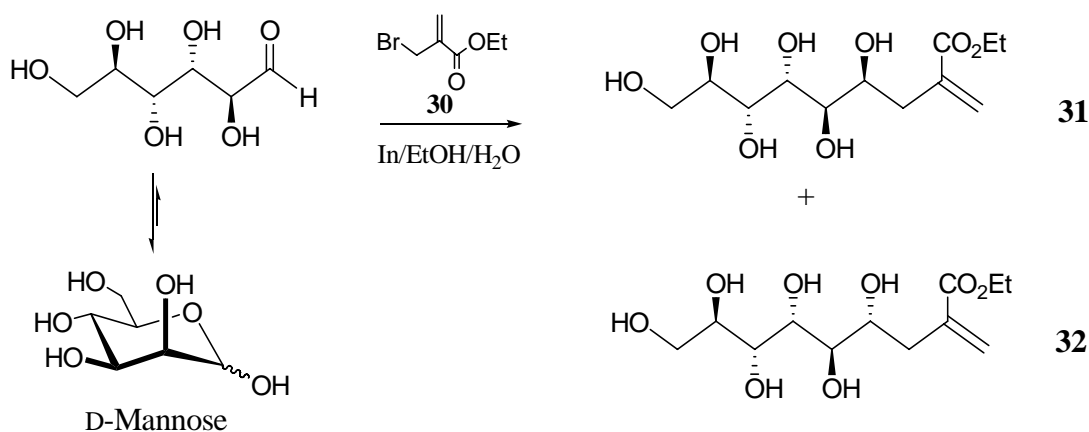
Disaccharid (Art der Verknüpfung)	Löse- mittel	AllBr (Äq.)	In (Äq.)	Reaktions- dauer	Diastereo- meren- verhältnis	Ausbeute % (isoliert)	Produkt
D-Maltose $\alpha$ -(1→4)	<b>A</b> <sup>b)</sup>	18	7	8 d	6:1	81	<b>13/14</b>
D-Melibiose $\alpha$ -(1→6)	<b>B</b> <sup>c)</sup>	6	3	22 h	6:1	98	<b>17/18</b>
D-Isomaltose $\alpha$ -(1→6)	<b>B</b> <sup>c)</sup>	12	5.5	19 d	6:1	92	<b>21/22</b>
D-Lactose $\beta$ -(1→4)	<b>A</b> <sup>b)</sup>	18	8	7 d	5:1	100	<b>23/24</b>
	<b>B</b> <sup>a)</sup>	18	8	7 d	5:1	100	<b>23/24</b>
D-Cellobiose $\beta$ -(1→4)	<b>B</b> <sup>c)</sup>	8	4	6 d	6:1	64	<b>25/26</b>
D-Gentibiose $\beta$ -(1→6)	<b>B</b> <sup>c)</sup>	9	5	4 d	6:1	70	<b>27/28</b>

**A:** EtOH/Wasser 4:1. **B:** EtOH/0.1 M HCl 4:1-5:1. a) Rühren bei Raumtemperatur. b) Rühren bei 50°C. c) Behandeln im Ultraschallbad bei 50°C

Auch bei Berücksichtigung der leicht veränderten Randbedingungen ist erstaunlich, dass kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Konstitution der Zucker und den Reaktionsbedingungen zu erkennen ist. Sowohl die Konstitution ( $\alpha$  bzw.  $\beta$ ) als auch die Position der Verknüpfungen (1→4 bzw. 1→6) der Disaccharide scheinen keinen systematischen Einfluss auf die Reaktionsparameter der Allylierung zu haben. Allgemein ist eine deutliche Verlangsamung der Reaktionsgeschwindigkeit gegenüber der relevanten D-Glucose und ein deutlich höherer Bedarf an Reagenzüberschuss festzustellen. Die Gründe sind neben der langsameren Ringöffnung und somit der langsameren Nachbildung der freien Aldehyd-Form evtl. auch im Konformationsanspruch der Disaccharide zu suchen. Hierbei könnten sterische Effekte wie der Anordnung der Pyranose-Ringe zueinander möglicherweise die Mutarotationsgeschwindigkeit herabsetzen oder auch den Angriff des Nucleophils am Carbonylkohlenstoff erschweren. Die Ausbeuten sind dann jedoch gut bis sehr gut. Die Diastereomerenverhältnisse sind denen der D-Glucose sehr ähnlich. Auch hier ist kein zusätzlicher Effekt einer Disaccharidstruktur auf den stereokontrollierten Verlauf der Reaktion zu beobachten.

### 3.1.5 Sialinsäure-Vorstufen durch Addition von Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat an Monosaccharide

Mittels Indium-vermittelter Addition sollten entsprechend den literaturbekannten Umsetzungen von D-Mannose mit Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat<sup>[195]</sup> (72% Ausbeute; *threo/erythro* 6:1) bzw.  $\alpha$ -(Brommethyl)-acryl-säure<sup>[194]</sup> (75% Ausbeute; *threo/erythro* 5:1) die beiden diastereomeren Allylderivate **31** und **32** als Vorstufen von Sialinsäuren erhalten werden (**Abb. 30**). Die bevorzugte Verwendung des Ethylesters **30** als Allylierungs-Reagenz begründet sich in dessen leichter Zugänglichkeit aus relativ preiswerten Grundchemikalien. Die Synthese gelingt nach literaturbekannten Methoden aus Formaldehyd und Phosphonessigsäuretriethylester über Ethyl- $\alpha$ -(hydroxymethyl)-acrylat **29** als Zwischenstufe in Gesamtausbeuten von 44%<sup>[213,214]</sup>.

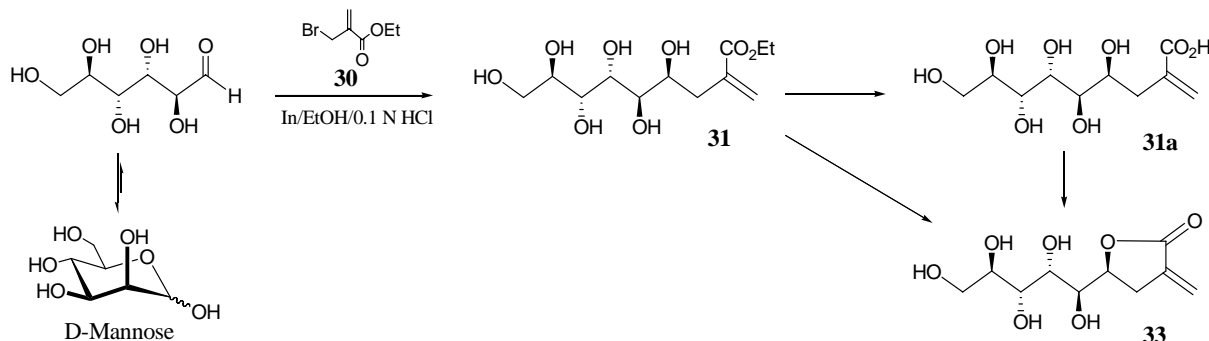


**Abb. 31:** Indium-vermittelte Addition an D-Mannose unter neutralen Bedingungen

Mit der Absicht, mittels Aldehyd-Protonierung den elektrophilen Charakter der Aldehyd-Gruppe zu erhöhen und somit neben einer beschleunigten Mutarotationsrate verkürzte Reaktionszeiten zu erzielen, konnte Warwel<sup>[114,175]</sup> zeigen, dass neben deutlicher Erhöhung der Umsatzgeschwindigkeit die Bildung eines Produktgemischs (1:1) zu beobachten war, das nicht dem erwarteten Gemisch der diastereomeren Ester **31/32** entsprach.

Wie weitere Untersuchungen zeigten, lieferte die Indium-vermittelte Addition von Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30** an D-Mannose unter aciden Bedingungen nicht das erwartete Gemisch der 4-epimeren Ester (**31/32**), sondern vielmehr ein Gemisch aus Ester **31** und dem stereochemisch identischen konfigurierten Lacton **33**. Eine Erklärung für diesen Sachverhalt liefert die Annahme, dass bei dem gewählten sauren Milieu (pH 2-3) zwei elementare Reaktionen ablaufen könnten: Zum einem würde die saure Hydrolyse des gebildeten Esters

die entsprechende freie Säure **31a** liefern, während andererseits eine Lactonisierung unter Ausbildung von **33** ablaufen würde. Die Lactonbildung wäre dabei sowohl als Umesterung direkt aus dem entsprechenden Ester als auch über die Zwischenstufe der Säure erklärbar (Abb. 32).

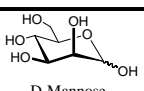
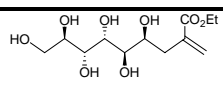
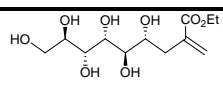
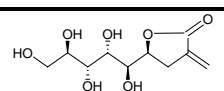
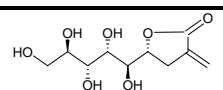
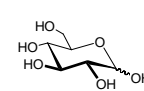
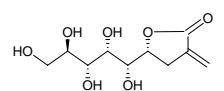
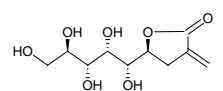
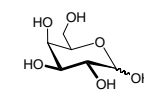
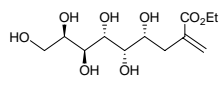
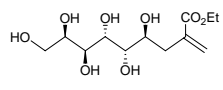
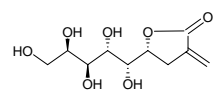
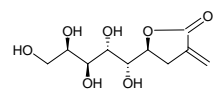


**Abb. 32:** Indium-vermittelte Addition an D-Mannose unter sauren Bedingungen<sup>[50,66]</sup>

Eigene Untersuchungen mit D-Mannose im Sauren (EtOH/0.1 N HCl 4:1) durch Ultraschallbehandlung bzw. Rühren bei 50°C zeigten jedoch, dass eine unter diesen Bedingungen verlaufende Umsetzung ein Ester(**31/32**)-Lacton(**33/34**)-Gemisch im Verhältnis von je ca. 1:5 mit dem jeweiligen Diastereomerenverhältnis *threo/erythro* 6:1 liefert. Bei längeren Reaktionszeiten war leider auch zunehmende Polymerisation des Reagenzes zu beobachten. Dies erklärt sich aus den sauren Bedingungen und der erhöhten Reaktionstemperatur, weshalb es sich daher empfiehlt, die Reaktion rechtzeitig abubrechen. Ein übermäßiges Zudosieren an Acrylat-Reagenz musste daher vermieden werden. Bei der Aufarbeitung erwies es sich als sinnvoll, das Produkt nicht bis zur Trockene einzuziehen, da hier die Gefahr der Polymerisation am Größten ist.

Basierend auf den gewonnenen Erkenntnissen aus der Umsetzung von D-Mannose mit Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30** wurden analoge Umsetzungen mit D-Glucose und D-Galactose durchgeführt. Wie schon bei den Reaktionen mit Allylbromid beobachtet, verlief die Umsetzung von D-Mannose und D-Galactose im Sauren schneller als unter neutralen Bedingungen. Die geringeren Ausbeuten erklären sich mit der Polymerisationstendenz des Reagensüberschusses. Es wurden tatsächlich bei der Aufarbeitung der Reaktionsgemische farblose Feststoffe isoliert, die sich weder in Wasser noch in organischen Solventien lösten und somit auch nicht weiter charakterisiert wurden. Um weitere Verluste zu vermeiden, wurde der Ansatz mit D-Glucose sofort weiterverarbeitet. Eine Probe des aus Glucose erhaltenen Produkts wurde zu analytischen Zwecken isoliert und mittels  $^1\text{H}$ - bzw.  $^{13}\text{C}$ -NMR charakterisiert.

**Tabelle 6:** Charakterisierte Produkte aus der Addition von Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30** an Monosaccharide

Edukt	Produkt			
	Ester		Lacton	
	<i>threo</i>	<i>erythro</i>	<i>threo</i>	<i>Erythro</i>
 D-Mannose	 <b>31</b>	 <b>32</b>	 <b>33</b>	 <b>34</b>
 D-Glucose	-	-	 <b>35</b>	 <b>36</b>
 D-Galactose	 <b>39</b>	 <b>40</b>	 <b>41</b>	 <b>42</b>

Im Vergleich zu Mannose und Galactose verlief jedoch die Umsetzung von Glucose zu **35/36** relativ langsam. Obwohl bereits nach 3-4 d fast vollständiger Umsatz erreicht worden war, bedurfte es weiterer Zudosierung von Reagenz, um das Edukt vollständig zu verbrauchen. Aufgrund der langen Reaktionszeit war das Diastereomerenmisch **35/36** fast vollständig lactonisiert. Von den erwarteten Estern konnten lediglich Spuren im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des Rohgemischs beobachtet werden (**Tabelle 7**).

**Tabelle 7:** Addition von Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30** an Monosacchariden durch Behandlung im Ultraschallbad bei 50°C

Monosaccharid	Lösemittel	Acrylat (Äq)	In (Äq)	Reaktions- dauer	Diastereomeren -verhältnis <i>threo/erythro</i>	Ausbeute (%) (isoliert)	Produkt
D-Mannose	<b>A</b>	2	2	30 h	6:1	69	<b>31-34</b>
	<b>B</b>	2	2	20 h	6:1	43 <sup>b)</sup>	<b>31-34</b>
D-Glucose	<b>B</b>	4	2	8 d	6:1	75 <sup>a)</sup>	<b>35/36</b>
D-Galactose	<b>A</b>	2	2	24 h	7:1	71	<b>39-42</b>
	<b>B</b>	2	2	6 h	7:1	53 <sup>b)</sup>	<b>39-42</b>

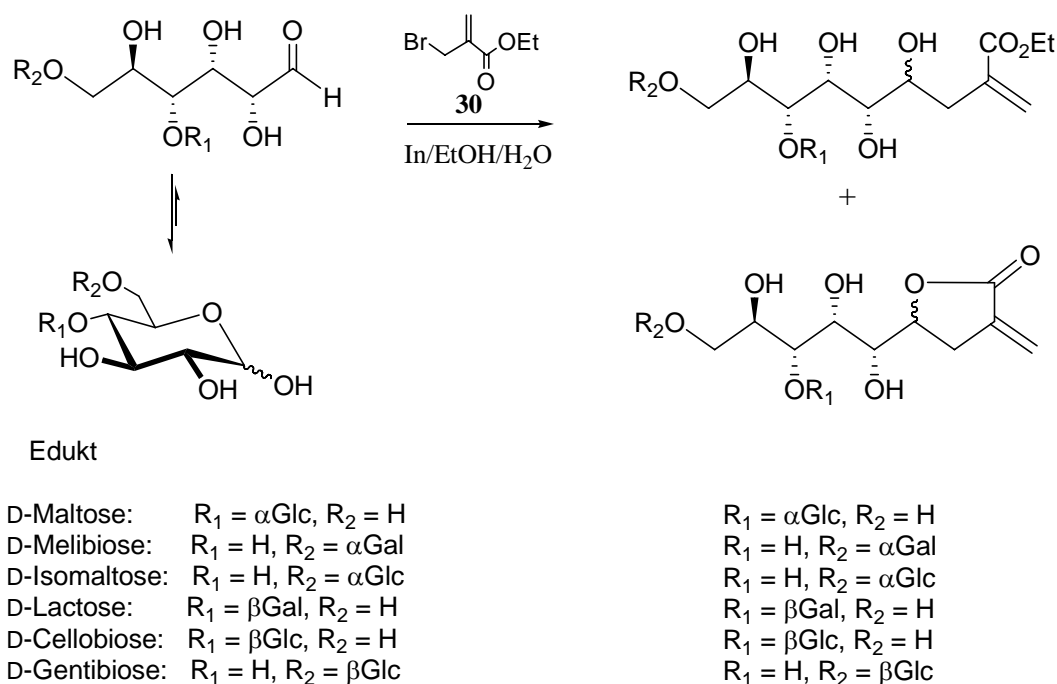
**A:** EtOH/Wasser 4:1. **B:** EtOH/0.1 M HCl 4:1. a) geschätzte Ausbeute: Ansatz sofort weiter verarbeitet. b) Beobachtung von Polymerisation

Die Vorteile der erhöhten Allylierungsgeschwindigkeit im sauren Medium konnten somit auch bei D-Glucose und D-Galactose verifiziert werden. Der von Warwel bei D-Mannose festgestellte höher stereokontrollierte Reaktionsverlauf im Säuren konnte jedoch nicht reproduziert werden. Es wurden Ester/Lacton-Gemische mit dem eher üblichen *threo/erythro*-Verhältnis von 6:1 (**31-34** bzw. **35/36**) und 7:1 (**39-42**) erhalten. Die Konfiguration des Hauptisomers wurde jedoch erst nach Ozonolyse mittels  $^1\text{H}$ -NMR-spektroskopischer Analyse bestimmt.

Im Vergleich mit der einfachen Allylierung verläuft die Addition des Acrylats **30** als Nucleophil generell langsamer. Auch die Ausbeuten nehmen ab. Eine der Hauptursachen ist in der beobachteten Polymerisation des Reagenzes zu suchen. Der benötigte Überschuss an Reagenz wird somit teilweise zunichte gemacht. Vor allem bei langen Reaktionszeiten wie der Umsetzung von D-Glucose ist dieser Effekt besonders wirksam. Darüber hinaus könnte der größere sterische Anspruch des Acrylats im Vergleich zum einfachen Allylbromid eine Verlangsamung der Additionsreaktion bewirken.

### 3.1.6 Sialinsäure-Vorstufen durch Addition von Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat an Disaccharide

Mit den obigen Erkenntnissen zur Reaktivität von Monosacchariden mit Indium-aktiviertem Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat wurde im Weiteren erstmalig versucht, dies auf Disaccharide (**Abb. 29**) mit *gluco*-Konfiguration am reduzierenden Ende als Ausgangsverbindungen zu übertragen. Über die gewonnenen Vorstufen schien dies eine exzellente Möglichkeit zu bieten, zuckerkonjugierte 4-*epi*-KDN-Disaccharide über eine kurze Reaktionssequenz stereoselektiv ohne jegliche Schutzgruppenmanipulation zu synthetisieren.

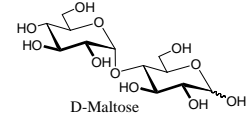
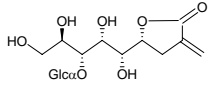
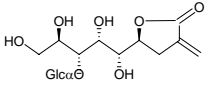
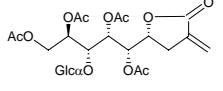
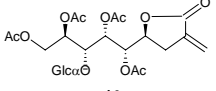
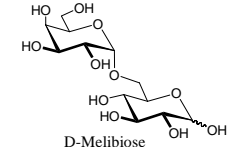
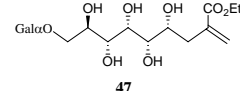
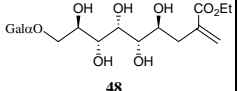
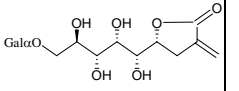
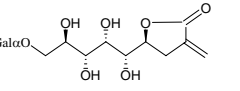
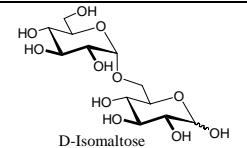
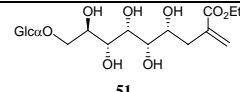
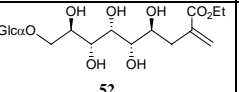
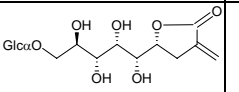
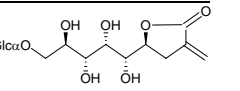
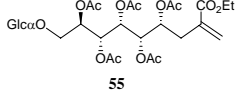
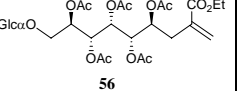
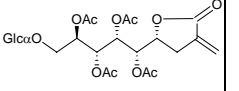
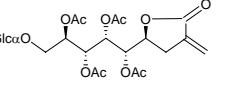
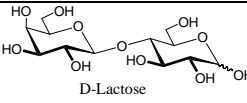
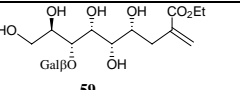
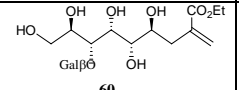
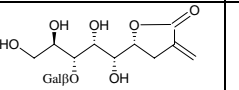
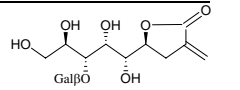
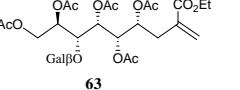
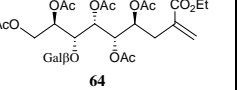
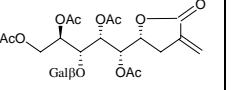
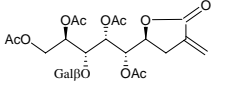
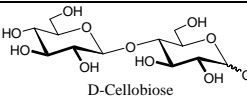
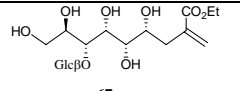
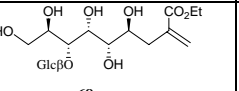
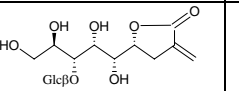
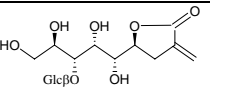
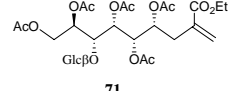
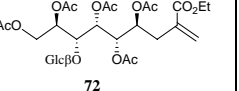
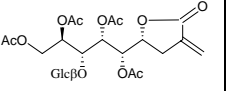
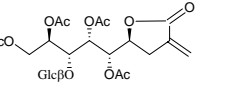
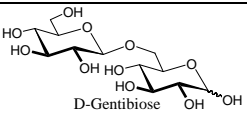
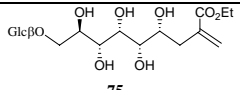
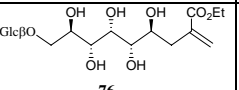
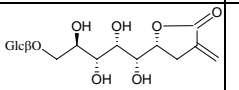
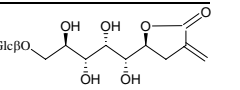


**Abb. 33:** Indium-vermittelte Addition von Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30** an Disaccharide

Voruntersuchungen an D-Maltose zeigten ähnlich der Allylierung mit  $\text{AlBr}_3$ , dass für die Umsetzung von Disacchariden wesentlich längere Reaktionszeiten benötigt werden. Auch ein höherer Reagenzüberschuss im Vergleich zu Monosacchariden war erforderlich, der wegen der höheren Neigung des Reagenz zur Polymerisation am besten über einen längeren Zeitraum zudosiert wird. Reaktionsführungen im neutralen bzw. sauren Milieu zeigten umsatzbezogen keinen großen Unterschied hinsichtlich der Reaktionszeit oder Diastereoselektivität. Insgesamt wurden ähnliche Diastereomeren-Verhältnisse von *threo/erythro*-Produkt wie schon bei den Monosacchariden beobachtet. Lediglich das Verhältnis von Ester zum entsprechenden Lacton variierte in manchen Fällen in Abhängigkeit vom Lösemittelsystem. Bei allen eingesetzten Disacchariden bildete jedoch das Lacton im Vergleich zum Ester das Hauptprodukt. Die bei den Umsetzungen gebildeten und im Rohprodukt mit Hilfe der  $^1\text{NMR}$ -Spektroskopie beobachteten Produkte sind in **Tabelle 8** zusammengefasst. Die Peracetylierung wurde direkt nach Aufarbeitung der Reaktionsgemische durchgeführt.



**Tabelle 8:** Charakterisierte Produkte nach Addition von Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30** an Disaccharide

Edukt	Produkt			
	Ester		Lacton	
	<i>threo</i>	<i>erythro</i>	<i>threo</i>	<i>erythro</i>
 D-Maltose	-	-	 <b>43</b>	 <b>44</b>
	-	-	 <b>45</b>	 <b>46</b>
 D-Melibiose	 <b>47</b>	 <b>48</b>	 <b>49</b>	 <b>50</b>
	-	-	-	-
 D-Isomaltose	 <b>51</b>	 <b>52</b>	 <b>53</b>	 <b>54</b>
	 <b>55</b>	 <b>56</b>	 <b>57</b>	 <b>58</b>
 D-Lactose	 <b>59</b>	 <b>60</b>	 <b>61</b>	 <b>62</b>
	 <b>63</b>	 <b>64</b>	 <b>65</b>	 <b>66</b>
 D-Cellobiose	 <b>67</b>	 <b>68</b>	 <b>69</b>	 <b>70</b>
	 <b>71</b>	 <b>72</b>	 <b>73</b>	 <b>74</b>
 D-Gentibiose	 <b>75</b>	 <b>76</b>	 <b>77</b>	 <b>78</b>
	-	-	-	-

In den meisten Fällen der Addition des Acrylats an die Disaccharide konnte jedoch kein vollständiger Umsatz erreicht werden. Trotz langer Reaktionszeiten und entsprechend hoher Dosierung an Reagenz wurden Umsätze von maximal 80-95% beobachtet. Wegen der zunehmenden Bildung von Polymermaterial als Nebenreaktion musste die Reaktion vorzeitig abgebrochen. Bei Bedarf ließen sich die Produkte entweder über Aktivkohle/Kieselgur 1:1 mit Wasser und einen EtOH-Gradienten als Eluenten aufreinigen, oder man musste den etwas umständlicheren Weg der Peracetylierung, chromatographischen Trennung an Kieselgel und Entschützung des entsprechenden Diastereomerenmischs wählen.

Aus der Umsetzung von D-Maltose mit 6 Äquivalent Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30** und 6 Äquivalenten Indium (nach dem Schema von **Abb. 33**) wurden entsprechend nach 7 d Reaktionszeit bei einem Umsatz von ca. 85% und Aufreinigung an Aktivkohle/Kieselgur ausschließlich das Diastereomerenpaar **43/44** in hoher Reinheit in bis zu 59% Ausbeute erhalten (**Tabelle 9**). Der Versuch, die Diastereomere **45/46** chromatographisch als Peracetate zu trennen scheiterte aufgrund des zu geringen Unterschieds der  $R_F$ -Werte.

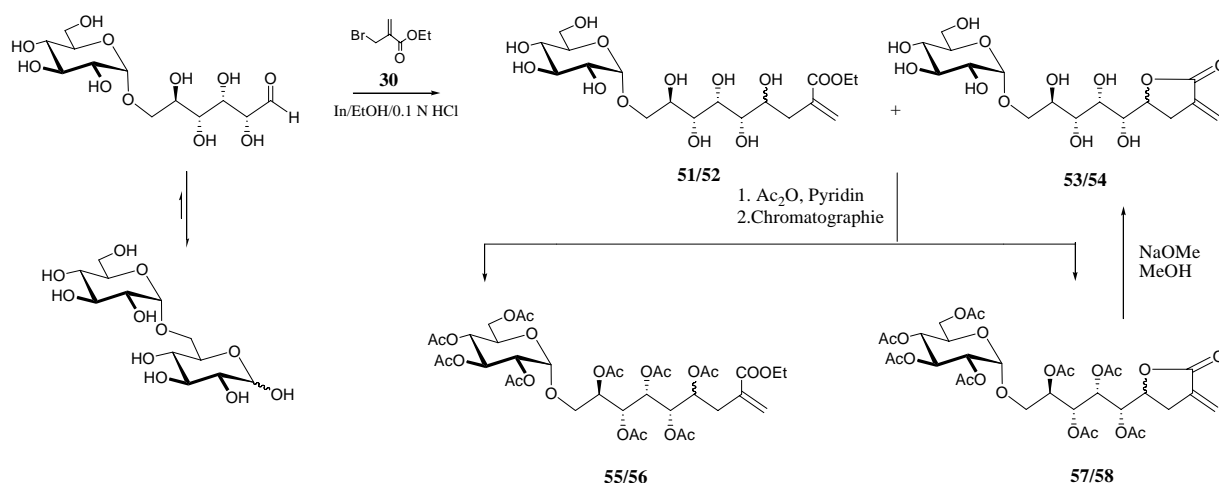
**Tabelle 9:** Addition von Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30** an Disaccharide

Disaccharid (Art der Verknüpfung)	Lösemittel	Acrylat (Äq.)	In (Äq.)	Reaktions- dauer	Diastereomeren- verhältnis <i>threo/erythro</i>	Ausbeute % (isoliert)	Produkt <i>threo/erythro</i>
D-Maltose $\alpha$ -(1→4)	<b>A</b> <sup>b)</sup>	6	6	7 d	7:1	59 <sup>c)</sup>	<b>43/44</b>
D-Melibiose $\alpha$ -(1→6)	<b>A</b> <sup>b)</sup>	3	3	6 d	5:1	35 <sup>c)</sup>	<b>47-50</b>
D-Isomaltose $\alpha$ -(1→6)	<b>B</b> <sup>a)</sup>	8	8	11 d	5:1	75	<b>53/54</b>
	<b>B</b> <sup>b)</sup>	4.5	4.5	3.5 d	8.5:1	36 <sup>d)</sup>	<b>53/54</b>
D-Lactose $\beta$ -(1→4)	<b>A</b> <sup>a)</sup>	6	5	8 d	6.5:1	64	<b>61/62</b>
	<b>A</b> <sup>a)</sup>	4.5	4.5	4 d	6.5:1	14 <sup>d)</sup>	<b>61/62</b>
D-Cellobiose $\beta$ -(1→4)	<b>B</b> <sup>b)</sup>	4.5	4.5	3.5 d	7:1	14 <sup>d)</sup>	<b>69/70</b>
D-Gentibiose $\beta$ -(1→6)	<b>A</b> <sup>b)</sup>	3	3	3 d	6:1	70	<b>75-78</b>

**A:** EtOH/Wasser 5:1. **B:** EtOH/0.1 M HCl 5:1. a) Rühren bei 50°C. b) Behandeln im Ultraschallbad bei 50°C. c) Trennung mittels Chromatographie an Aktivkohle/Kieselgur 1:1 d) Trennung über Peracetate (s. **Tabelle 8**) und anschließende Entschützung

Bei der Reaktion von D-Melibiose mit jeweils nur 3 Äquivalenten der Reagenzien gelang es trotz vollständigem Verbrauch des Disaccharids und chromatographischer Aufreinigung nicht, mehr als nur 35% Ausbeute an Ester(**47/48**)-Lacton(**49/50**)-Gemisch 1:3 zu isolieren. Die niedrige Ausbeute erklärt sich zum einen durch die nicht weiter optimierten Trennbedingungen sowie den hohen Anteil Polymeranteil, der vermutlich den Löwenanteil der Addukte inkorporiert hatte.

Aus dem Ansatz mit einer kleinen Menge an D-Isomaltose bzw. D-Lactose und einem großen Überschuss an Reagenz konnte fast vollständiger Umsatz erreicht und nach Aufarbeitung das Adduktgemisch **53/54** bzw. **61/62** in bis zu 75% bzw. 63% Ausbeute isoliert werden. Um Verluste durch Polymerisation zu begrenzen, wurde jeweils eine zweite Reaktion mit größeren Mengen nach 3.5 d bzw. 4 d abgebrochen und sofort peracetyliert. Durch chromatographische Trennung und Entschützung konnte das gereinigte Diastereomerenpaar **53/54** in 36% Ausbeute bzw. **61/62** in 14% Ausbeute über jeweils 3 Stufen erhalten werden. Für die Charakterisierung der Einzelkomponenten **55-58** bzw. **63-66** im Rohgemisch kam erschwerend hinzu, dass wegen des sehr ähnlichen Laufverhaltens von peracetyliertem Restedukt und des gebildeten Estergemischs keine Trennung dieser beiden Verbindungen erzielt werden konnte. Es gelang lediglich, das Diastereomerenpaar des Lactons vom Reaktionsgemisch zu trennen und anschließend zu entschützen.



**Abb. 34:** Indium-vermittelte Addition von Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30** an D-Isomaltose

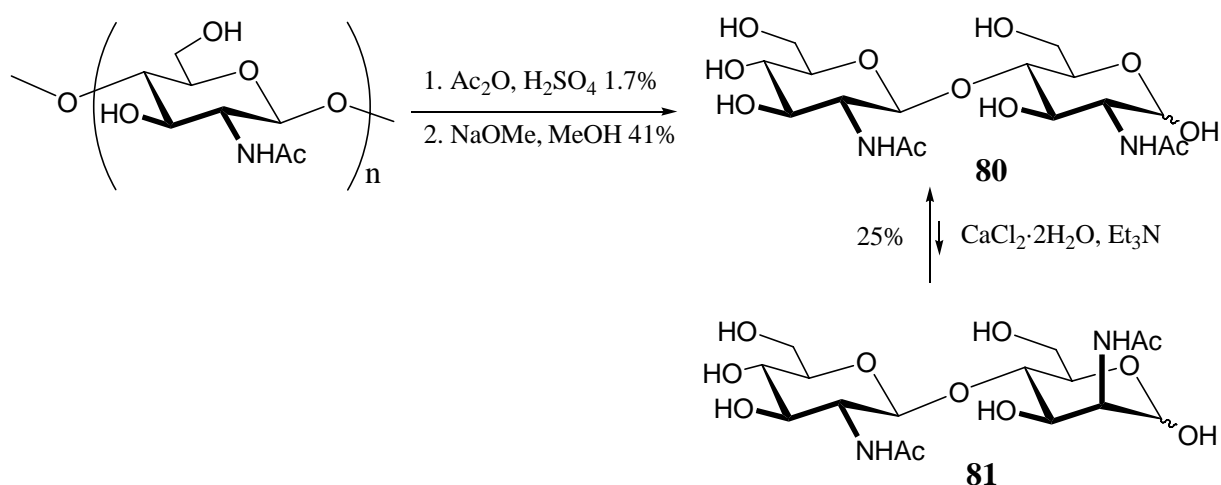
Analoge Umsetzung mit einer größeren Menge von D-Cellobiose lieferte über 3 Stufen das Adduktgemisch **69/70** in 14% Ausbeute. Es gelang schließlich, D-Gentibiose ebenfalls vollständig zu **75-78** umzusetzen und in 70% Ausbeute ohne zusätzliche Aufreinigung zu erhalten. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 9** zusammengefasst.

Im Vergleich zu den Umsetzungen mit Allylbromid mussten, wie schon bei der Addition an Monosacchariden beobachtet, rückläufige Umsatz- und Ausbeuteraten in Kauf genommen werden. Zunehmende Polymerisation des Acrylatreagenzes in Kombination mit zur D-Glucose relevant langen Reaktionszeit führten trotz Optimierungsversuche nicht zum vollständigem Umsatz des Disaccharids. Um trotzdem an die gewünschte Produkte zu gelangen, wurden in manchen Fällen die Additionsreaktionen abgebrochen und die Produkte über Peracetylierung, chromatographische Trennung mit anschließender Entschützung lediglich in befriedigenden Ausbeuten erhalten.

### 3.1.7 Sialinsäure-Vorstufe durch Addition von Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat an Chitobiose bzw. *epi*-Chitobiose

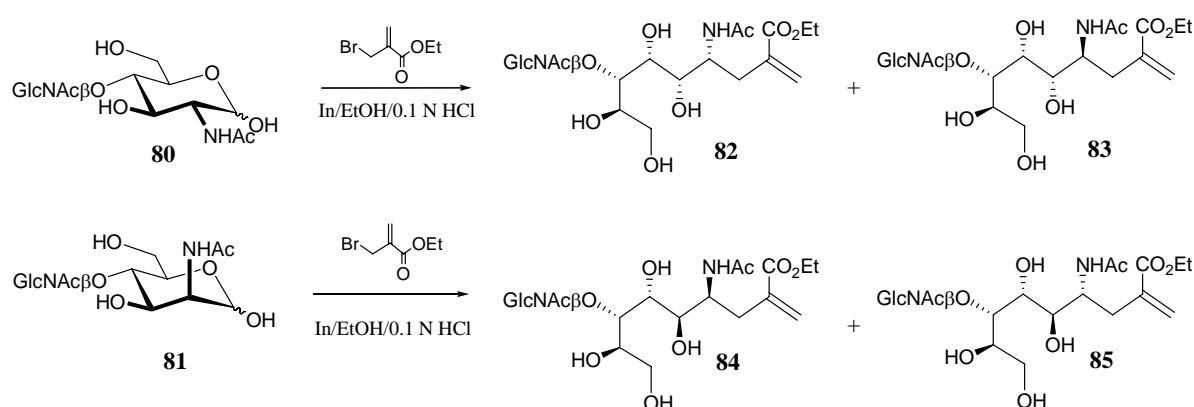
Nachdem es bereits gelang, ManNAc erfolgreich in einer chemischen Reaktionssequenz unter In-Vermittlung zu Neu5Ac umzusetzen, lag der Versuch nahe, zuckersubstituierte Neu5Ac-Derivate über die Acryladdukte als Zwischenstufe auf chemischem Wege herzustellen. Da eine nachträgliche Glycosylierung von Neu5Ac an den Positionen C-7/8/9 sich als zu aufwendig erweisen würde, war es von Interesse, stattdessen Disaccharide mit reduzierendem ManNAc-Ende als potentielle Kandidaten in Betracht zu ziehen. Als Modellverbindung wurde *epi*-Chitobiose **81**, ein  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-verknüpftes Disaccharid aus einer ManNAc- und GlcNAc-Einheit gewählt, dass nach einer Methode der basischen Epimerisierung von *Tanase et al.* aus der Chitobiose **80** generiert werden kann<sup>[214]</sup>. Nach Zugabe von CaCl<sub>2</sub> und Et<sub>3</sub>N in MeOH wurde bereits nach 20 min Chitobiose **80** zu einer Mischung aus **80** und **81** im Verhältnis 3:1 äquilibriert. Auf eine unergiebigere Trennung der beiden Epimere sollte möglichst verzichtet werden können, da aus kinetischen Gründen bevorzugt der ManNAc-Anteil zum entsprechendem Acrylat-Addukt abreagieren sollte, der nach Ozonolyse in das Neu5Ac-Derivat überführt und mittels Ionentauscherchromatographie von nicht reagierter Chitobiose relativ einfach abgetrennt werden könnte. Vorversuche der In-vermittelten Addition des Acrylats **30** an GlcNAc hatten tatsächlich gezeigt, dass praktisch kein Umsatz stattfand. Zwar gelang es *Křen et al.* durch enzymatische Diskriminierung von 2-Acetamido-2-desoxy-D-mannopyranose-enthaltenden Disacchariden unter Zugabe von  $\beta$ -N-Acetylhexosaminidasen den entsprechenden ManNAc-Anteil in geringen präparativen

Mengen zu isolieren<sup>[216]</sup>, jedoch wurde auf diese Route mit Hinblick auf die nicht kommerziell verfügbaren Enzyme verzichtet.



**Abb. 33:** Saure Partialhydrolyse und 2-Epimerisierung von Chitin

Obwohl Chitobiose **80** kommerziell erhältlich ist, sind größere präparative Einsätze des kommerziellen Produkts viel zu kostspielig. Eine Alternative zum Zugang der teuren Chitobiose bietet die nach einem Literaturprotokoll durchgeführte Partialhydrolyse des billigen Chitins aus Krabbenschalen<sup>[217]</sup>. Nach Degradation von Chitin in konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und anschließender Peracetylierung konnte jedoch die geschützte Chitobiose in lediglich in 1.7% Ausbeute erhalten werden.



**Abb. 34:** In-vermittelte Addition von Chitobiose **80** bzw. *epi*-Chitobiose **81**

Untersuchungen mit kleineren Mengen an Gemisch von **80/81** im 30-mg Maßstab zeigten bei der Addition von Acrylat **30** trotz des Überschusses an Reagenz bei Raumtemperatur kaum

Umsatz (Ansatz 1, **Tabelle 10**). Erhöhte man die Reaktionstemperatur auf bis zu 50°C, so konnte bereits nach 2 d ein Umsatz von 26% festgestellt werden. Die Umsatzbestimmung erfolgte mittels <sup>1</sup>NMR-Spektroskopie über die Integrale der anomeren H-Protonen und der Methylen-Signale der neu gebildeten Produkte **82-85**. Leider konnte auch nach versuchter Optimierung der Reaktionsbedingungen kein vollständiges Abreagieren der *epi*-Chitobiose **81** erreicht werden. Signale des ManNAc-konfigurierten Eduktanteils konnten auch nach längerem Reagieren beobachtet werden. Wegen der erhöhten Temperatur bei Ansätze 2/3 ist aber auch mit schwachem Umsatz der normalerweise nicht reaktiven Chitobiose **80** zu rechnen. Die Umsatzbestimmung ist daher auf das Eduktgemisch **80/81** zu beziehen. Aufgrund der Komplexität der Spektren war jedoch eine genauere Zuordnung nicht möglich. Auch wegen der zu geringen Mengen der sich gebildeten Produktmischung **82-85** wurde auf eine Ozonolyse verzichtet. Interessant wäre auch der Einsatz eines (1→6)-verknüpften Disaccharids mit einer ManNAc-Einheit am reduzierendem Ende. Aufgrund eines anderen sterischen Konformationsanspruches des Disaccharids hätte man eine verbesserte kinetische Diskriminierung bezüglich der GlcNAc- und ManNAc-Konfiguration erwartet. Bei entsprechenden Bedingungen sollte somit der gewünschte ManNAc-Anteil schneller abreagieren und das gewünschte an der Position C-9 GlcNAc-substituierte Neu5Ac-Derivat nach Ozonolyse des Allyladdukts erhalten werden.

**Tabelle 10:** Umsetzungen von Chitobiose/*epi*-Chitobiose **80/81** in EtOH/0.1 N HCl 5:1

Ansatz	Acrylat Äq.	Indium Äq.	Temperatur	Reaktionszeit	Umsatz (%)
1	6	4	25°C	14 d <sup>b)</sup>	<b>6</b>
2	12	8	40°C	7 d <sup>b)</sup>	<b>18</b>
3	6	4	50°C	2 d <sup>a)</sup>	<b>26</b>

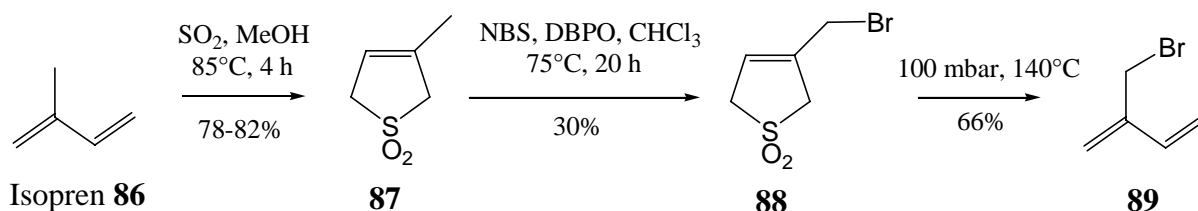
a) Ultraschallbad    b) geschlossenes Glasbombenrohr

### 3.1.8 Allylierung von Aldosen mit Bromisopren

Bereits in den Achtzigern gelang es *Lubineau*, wasserlösliche trans-Butadienylether aus ungeschützter Glucose als hydrophile Diels-Alder Komponenten zu synthetisieren<sup>[218]</sup>.

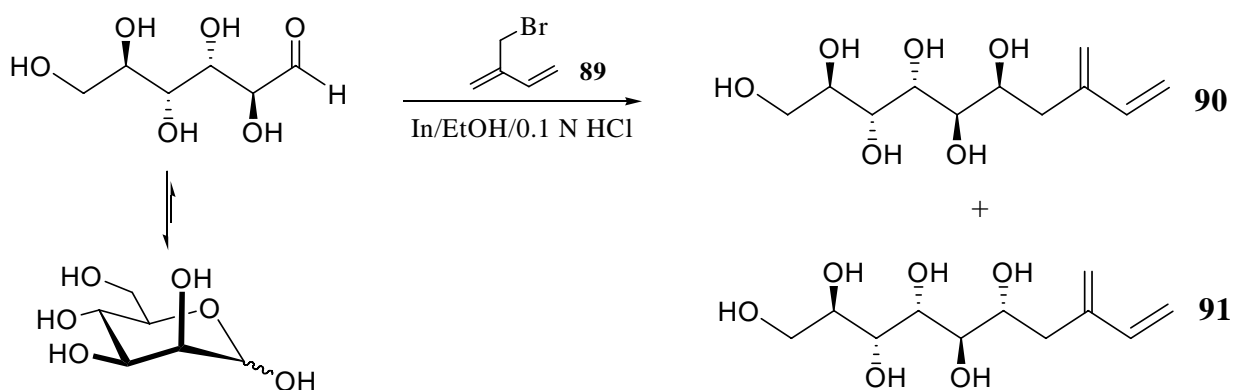
Wesentlich höhere Umsatzraten und Stereoselektivitäten bei Cycloadditionen im Wässrigen mit einer Reihe von Dienophilen im Vergleich zu peracetylierten Zuckern machten derartige Zuckerderivate reizvoll. Im Hinblick auf die guten Erfahrungen mit Barbier-Reaktionen an Kohlenhydraten lag es nahe, ungeschützte Aldosen durch Indium-vermittelte Kettenverlängerungen mit allylischer Dienkomponente zu testen, um sich so einen einfachen und schnellen Zugang zu Glyko-Dienen zu verschaffen. Dies scheint eine um so interessantere Herausforderung zu sein, als es *Pozsday et al.* kürzlich gelang, diensubstituierte Kohlenhydrate mit modifizierten Proteinen in einer wässrigen Diels-Alder-Reaktion in entsprechende Biokonjugate umzuwandeln<sup>[219]</sup>. Ein besonders wertvolles C<sub>5</sub>-Synthon ist das 2-Brommethyl-1,3-butadien **89**, nachdem es bereits unter In-Vermittlung gelang, dieses erfolgreich zur Synthese des Naturstoffs (±)-Ipsenol zu verwenden<sup>[220]</sup>.

Die Synthese des Allylierungsreagenzes **89** folgte gut ausgearbeiteten Literatur-Methoden. Ausgehend von Isopren **86** wird zuerst das Thiophen **87** in einer cheletropen Cycloaddition im Druckautoklaven erhalten<sup>[221]</sup>, das in einer radikalischen Bromierung in der Seitenkette zum entsprechenden Allylbromid-Derivat **88** umgesetzt wird. Anschließend cheletrope Ringspaltung durch Pyrolyse unter vermindertem Druck liefert nach Destillation das gewünschte Produkt **89** in hoher Reinheit (**Abb. 33**)<sup>[222]</sup>. Als zeitaufwendiger Schritt erwies sich die Isolierung von **88**, welches erst nach mehrmaligem Umkristallisieren (5-7 mal) als farbloser Feststoff in gewünschter Reinheit isoliert werden konnte (Vorsicht: Produkt ist stark haut- und augenreizend). Dies war notwendig, um bei der anschließenden Pyrolyse ein möglichst reines Produkt zu erhalten. Mögliche Verunreinigungen aus der Vorstufe verringern bei der Destillation die Reinheit des Bromisoprens **89** verringern. Wegen der begrenzten Haltbarkeit von **89** (Polymerisation) empfiehlt es sich, dieses immer frisch aus der stabilen Vorstufe **88** herzustellen. Auf diese Weise konnten Studien mit **89** im Gram-Maßstab durchgeführt werden.



**Abb. 35:** Synthese von Bromisopren

Die In-vermittelte Umsetzung von D-Mannose und D-Galactose mit **89** unter aciden Bedingungen zu den entsprechenden 1-Addukten gelang bei Aktivierung im Ultraschallbad bereits innerhalb weniger Stunden in guten Ausbeuten (**Tabelle 11**). Aus den bisherigen Reaktivitätsabstufungen der Monosaccharide nicht überraschend gestaltete sich die Umsetzung von D-Glucose dagegen als schwierig. Auch nach fast 5 d war nur ein Umsatz von ca. 35% zu beobachten, wobei wegen der vergleichsweise aufwendigen Herstellung von **89** ein größerer Überschuss vermieden werden musste. Bei dem Versuch, ein Disaccharid (D-Melibiose) mit einem zwangsläufig erhöhten Reagenzüberschuss umzusetzen, wurde ebenso nur ein Umsatz von ca. 50% erreicht. Wegen der geringen Substanzmengen und Trennprobleme wurde auf eine Aufreinigung hier vorerst verzichtet.



**Abb. 36:** Indium-vermittelte Allylierung von D-Mannose mit Bromisopren **89**

**Tabelle 11:** Allylierung von Aldosen mit Bromisopren **89** in EtOH/0.1 M HCl 5:1

Monosaccharid	Brom- isopren (Äq.)	In (Äq.)	Reaktions- dauer	Diastereomeren- verhältnis <i>threo/erythro</i>	Ausbeute % (isoliert)	Produkt <i>threo/</i> <i>erythro</i>
D-Glucose	2	2	2 d	5:1	- <sup>a)</sup>	-
D-Mannose	2	2	5 h	6:1	57	<b>90/91</b>
D-Galactose	2	2	6 h	6:1	84	<b>92/93</b>
D-Melibiose	8	8	4.5 d	7:1	- <sup>b)</sup>	-

a) Umsatz ca. 35%, Produkt nicht isoliert. b) Umsatz ca. 50%, Produkt nicht isoliert

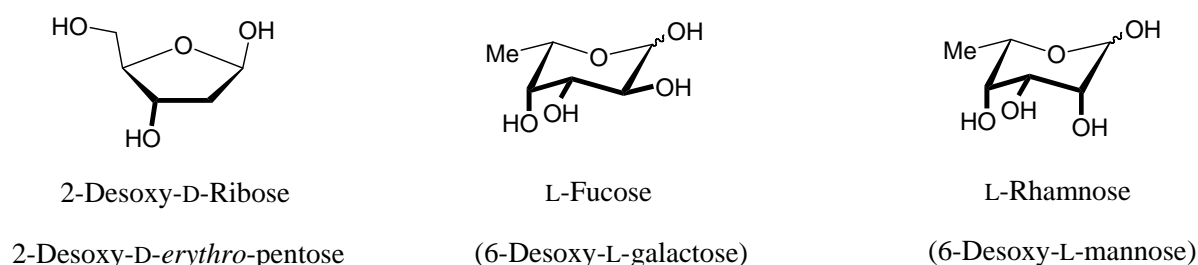


## 3.2 Desoxy-Zucker

### 3.2.1 Einleitung

Bei den Desoxy-Zuckern handelt es sich um Aldosen, bei denen eine oder mehrere Hydroxy-Gruppen durch Wasserstoffatome ersetzt sind. In der Natur sind die Desoxyaldosen gegenüber den Desoxyketosen vorherrschend und kommen in vielfältiger Form und Funktion in vielen Natur- und Wirkstoffen vor.

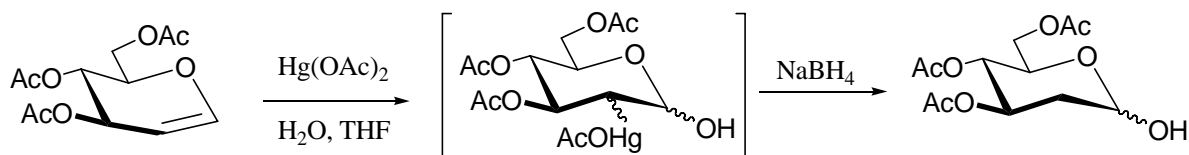
Der bekannteste Vertreter ist die „Desoxy-ribose“ (2-Desoxy- $\beta$ -D-*erythro*-pentose) als Baustein der Desoxyribonucleinsäure (DNA). Die Desoxygenierung kann aber auch an einer beliebigen anderen Position vorkommen, wobei die 6-Desoxy-Zucker am verbreitetsten sind. Vor allem L-Fucose (6-Desoxy-L-galactose) als Bestandteil von Glycokonjugaten und Polyglycosiden aus dem Tier- und Pflanzenreich sowie L-Rhamnose (6-Desoxy-L-mannose) als Bestandteil mancher Pflanzenglycoside und Polysaccharide, deren Biogenese bereits gut untersucht und aufgeklärt ist, sind hier zu nennen. In den letzten Jahren gelang außerdem die Identifizierung zahlreicher Mono-, Di- und Tridesoxy-Zucker im Antibiotika, bakteriellen Polysacchariden und cardiotoxischen Glycosiden.



**Abb. 37:** Wichtige Vertreter von Desoxy-Zuckern

Während die Desoxyfunktion am C-2 der  $\beta$ -D-Ribofuranose zur Erhöhung der Stabilität der entstehenden Ribonucleinsäure dient, scheinen L-Fucose und L-Rhamnose von der verbesserten hydrophoben Wechselwirkung der C-6-Position ( $\text{CH}_3$ ) mit entsprechenden biologisch aktiven Rezeptoren zu profitieren.

Glucale bieten oft einen bequemen Ausgangspunkt zur Synthese von weniger verbreiteten 2-Desoxy-Zuckern<sup>[223]</sup>.

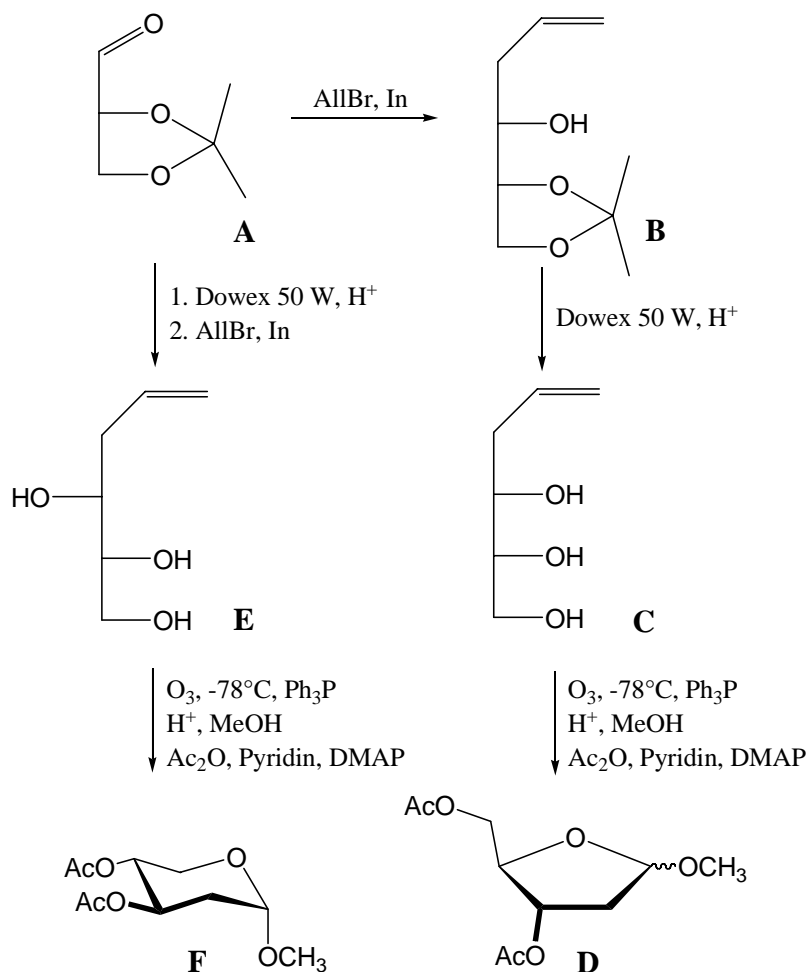


**Abb. 38:** Synthese von 2-Desoxy-Glucose aus Glucalen

Darüber hinaus bietet die Hetero-Diels-Alder-Reaktion formal einen guten Zugang zu Desoxy-Monosaccharid-Derivaten. Die Variationsmöglichkeiten sind groß, und entsprechend umfangreich ist die Literatur, die derartige *de-novo*-Synthesemöglichkeit für die Gewinnung von außergewöhnlichen Monosacchariden behandelt. Die Synthese von 2-Desoxy-L-*galacto*-heptose mag hier als repräsentatives Beispiel dienen<sup>[224]</sup>. Zu erwähnen ist hier eine besondere Reaktivität von Desoxy-Zuckern: Mit der Entfernung mindestens eines elektronegativen Sauerstoffatoms aus einem Zucker wird der korrespondierende Desoxy-Zucker basischer als die ursprüngliche Stammverbindung und somit anfälliger für Protonierungen. Zum Beispiel verläuft die Hydrolyse von Methyl-2-desoxy- $\alpha$ -D-*arabino*-hexopyranosid 2000 mal schneller als die von Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid<sup>[225]</sup>.

### 3.2.2 Synthese höherer 2-Desoxy-Mono- und Disaccharide

Bereits 1994 berichteten *Schmid et al.* über die Indium-vermittelte Allylierung von Aldehyden als eine bequeme Route zur Synthese von 2-Desoxy- und 2,6-Didesoxy-Kohlenhydraten<sup>[208]</sup>. Hierbei wurde zuerst (*R*)-2,3-*O*-Isopropyliden-glyceraldehyd **A** unter Indium-Vermittlung mit AllBr innerhalb 1 h zum entsprechender Mischung **B** der diastereomeren Alkohole mit einem Verhältnis 6.5:1 umgesetzt (**Abb. 39**). Eine Trennung der beiden Diastereomeren mit konventionellen säulenchromatographischen Methoden gelang direkt nicht. Um die Konfiguration des Hauptdiastereomeren am neu entstandenen chiralen Zentrum zu bestimmen, wurde das Allylderivat **B** unter sauren Bedingungen entschützt und die Triol-Mischung **C** ozonolysiert. Die entstandenen Methyl-2-desoxy-glycoside konnten als Peracetate über Silicagel leicht von einander getrennt werden. Das Hauptisomer wurde durch Korrelation mit dem bekanntem als Methyl-2-desoxy-D-ribofuranosid **D** identifiziert.



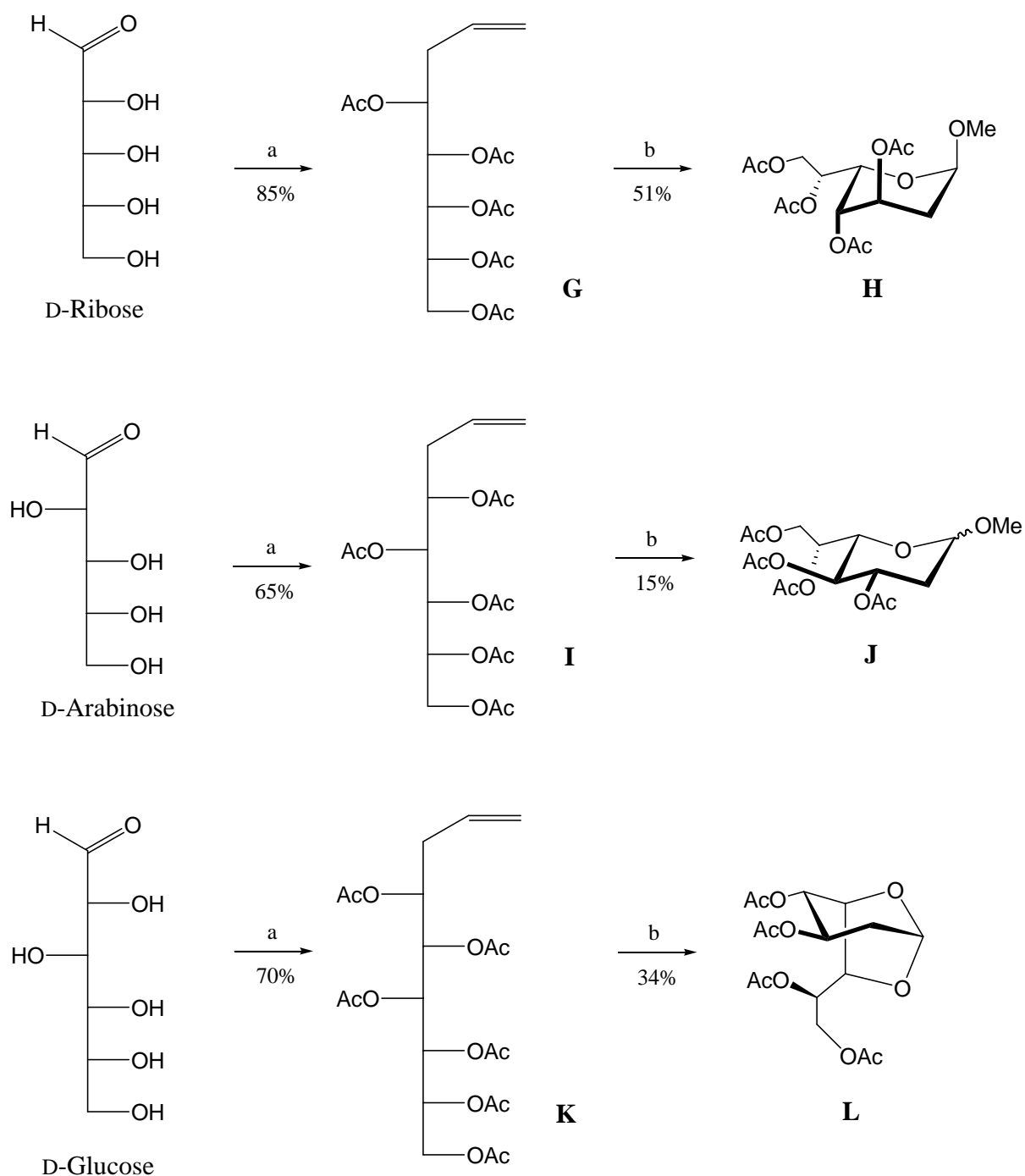
**Abb. 39:** Synthesesequenz zu 2-Desoxy-Pentosen nach Schmid *et al.*<sup>[208]</sup>

Somit konnte gezeigt werden, dass das Hauptisomer **D** in einer *erythro*-Beziehung zwischen der neu entstandenen Hydroxid-Funktion und des ursprünglich an Position 2 fixierten Stereozentrums der Ausgangsverbindung **A** steht.

Wurde dagegen die Allylierung nach der Entschützung von **A** in Dioxan/Wasser durchgeführt, resultierte ein Produktgemisch von **C** und **E** im Verhältnis 1:2, was eine Umkehrung der Stereoselektivität im Additionsschritt bedeutet. Nach Ozonolyse und Aufarbeitung wurde das entsprechende Produkt **F** als Hauptdiastereomer charakterisiert.

Parallel hierzu untersuchte Whitesides das Verhalten der Allylierung von Pentosen und Hexosen im Wässrigen<sup>[187]</sup>. Hierbei wurden ungeschützte Monosaccharide mit AllBr unter  $\text{Sn}$ -Vermittlung umgesetzt und das Bildungsverhalten der beiden Diastereomeren untersucht. Nach Allylierung von D-Ribose, D-Arabinose und D-Glucose und anschließender Acetylierung konnten die *threo*-Hauptdiastereomere **G**, **I**, **K** mittels Kieselgel

chromatographischer Trennung isoliert werden. Eine Trennung der ungeschützten Allylierungsaddukte gelang nicht auf herkömmlichem Wege.



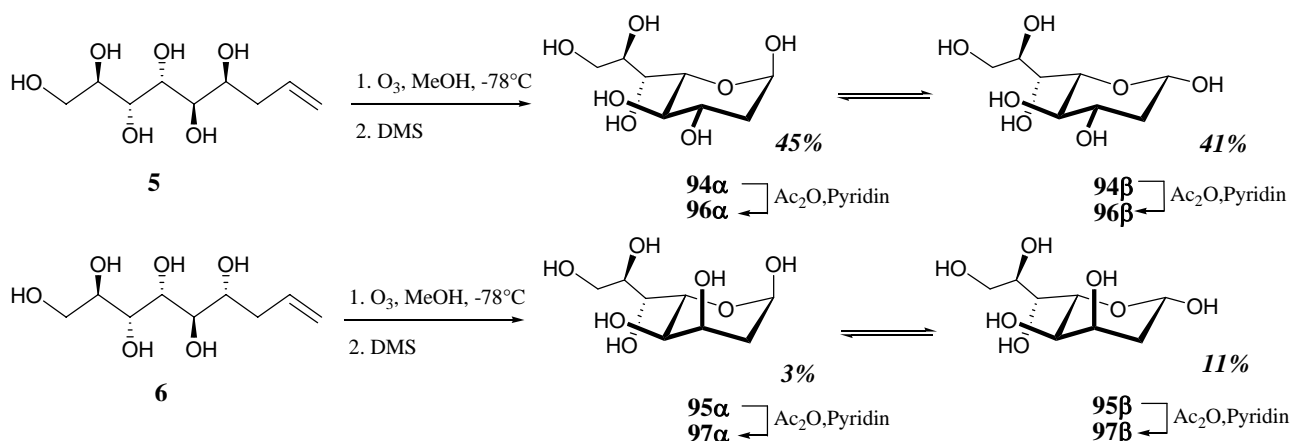
a) i) AllBr, Sn, EtOH/H<sub>2</sub>O; ii) Ac<sub>2</sub>O, Pyridin, DMAP; b) i) NaOMe, MeOH; ii) O<sub>3</sub>, MeOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78°C; iii) MeOH, H<sup>+</sup>; iv) Ac<sub>2</sub>O, Pyridin

**Abb. 40:** Synthese von 2-Desoxy-Heptosen/Octosen nach Whitesides<sup>[187]</sup>

Entschützung, Ozonolyse mit reduktiver Aufarbeitung, saure Glycosidierung in MeOH und Acetylierung lieferten nach chromatographischer Aufreinigung die entsprechende 2-Desoxy-Zucker **H**, **J** und **L**. Hierbei kommt es bei der aus D-Glucose resultierenden Desoxykomponente **L** zu einer Ausbildung einer 1,6-Anhydro-Verknüpfung, während die aus D-Ribose und D-Arabinose erhaltenen Komponenten das gewünschte Methyl-Glycosid liefern. Somit konnten erstmals mit der Methode der Sn/In-vermittelten Kettenverlängerung 2-Desoxy-Zucker in akzeptablen Ausbeuten erhalten werden.

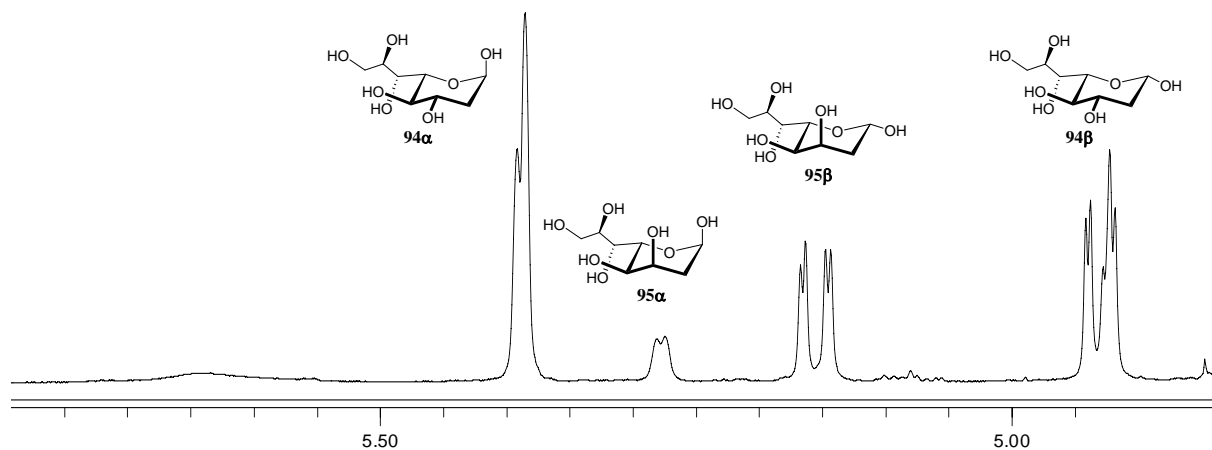
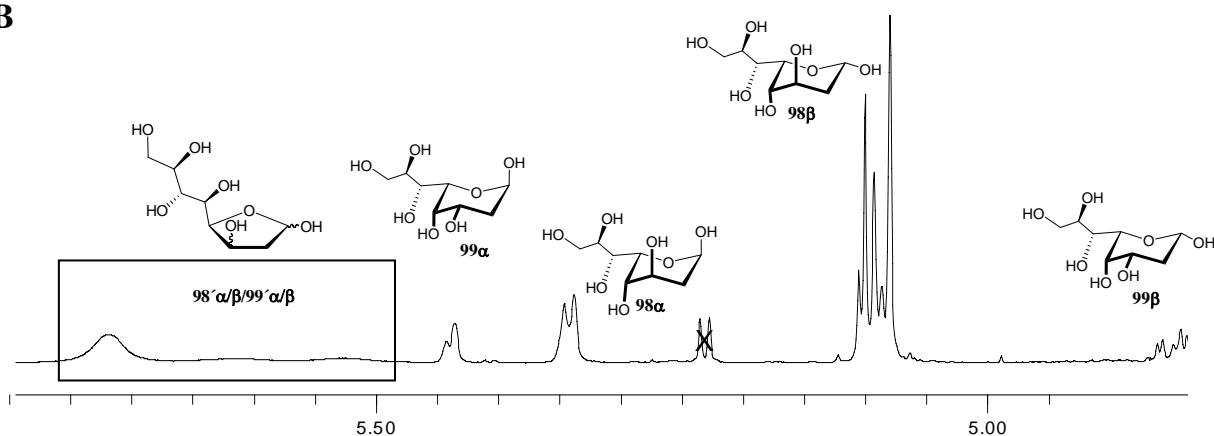
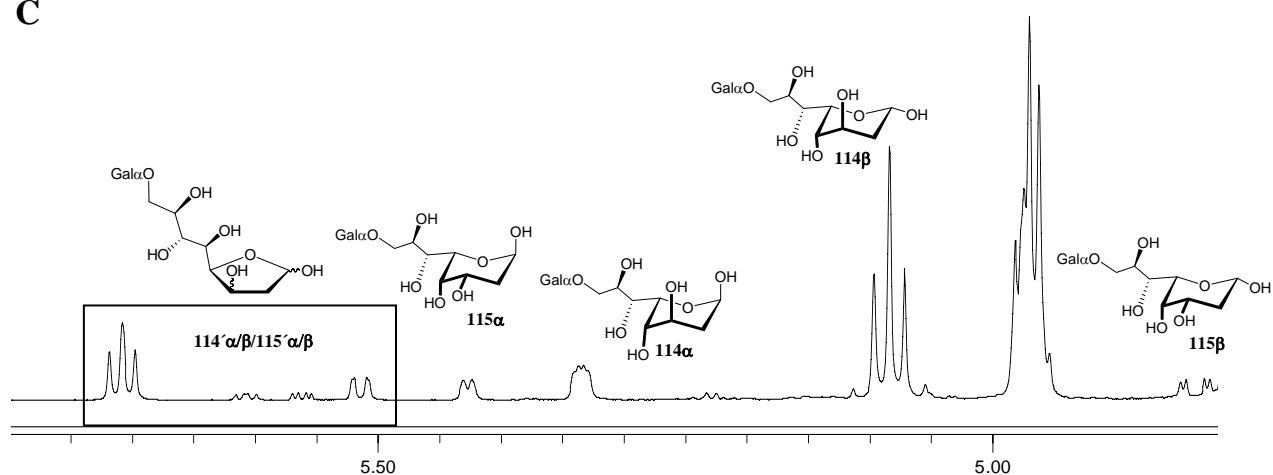
Im Rahmen dieser Arbeit wurde als erster Folgeschritt die Ozonolyse der aus D-Glucose, D-Mannose und D-Galactose erhaltenen diastereomeren Allylierungsaddukte **1/2**, **5/6** sowie **9/10** durchgeführt und die entsprechenden diastereomeren 2-Desoxy-Komponenten NMR-spektroskopisch charakterisiert. Die so gewonnenen Daten sollten anschließend die spektroskopische Charakterisierung der 2-Desoxy-Disaccharide signifikant erleichtern.

Im Hinblick auf die Analogie des aus D-Mannose erwarteten Hauptproduktes zum bekannten KDN und der daraus erhofften vereinfachten Zuordnung der Signale durch Spektrenvergleich wurde die Reihe der Ozonolysen mit dem aus D-Mannose erhaltenen Diastereomerengemisch **5/6** gestartet. Ozonolyse von **5/6** lieferte das Epimerengemisch aus 2-Desoxy-D-*glycero*-D-*galacto*-octose (**94**) und 2-Desoxy-D-*glycero*-D-*gulo*-octose (**95**) jeweils als Anomerenpaar (**Abb. 41**). Die Anomerenverteilung konnte mit Hilfe der <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie anhand der charakteristischen gut separierten Signale bestimmt werden (**Abb. 42, A**). Die Zuordnung der β-Anomere **94/95** gelang mit Hilfe der Kopplungskonstanten. Hierbei waren zwischen dem axial-ständigen anomeren 1-H-Proton und dem axial-ständigen 2-H-Proton Kopplungskonstanten von  $J = 9.5-10$  Hz zu beobachten. Die erwarteten geringeren 1-H-axial-2-H-äquatorial Kopplungskonstanten lagen bei  $J = 1.9-2.0$  Hz. Im Falle der α-konfigurierten Anomere wurden lediglich die Kopplungen der äquatorialen 1-H-Protonen mit dem axialen 2-H-Proton mit  $J = 3.2$  Hz beobachtet. Eine Unterscheidung der Epimere **94** und **95** und deren Anomerenverteilung erfolgte über das Integralverhältnis von **94α/β** zu **95α/β** in Korrelation mit dem bereits bekannten Diastereomerenverhältnis der Edukte **5/6**. Die Hoffnung, über eine anschließende Peracetylierung die entsprechenden Epimere bzw. Anomere mittels Säulenchromatographie trennen zu können, wurde nicht erfüllt. Lediglich das entsprechende Epimeren- bzw. Anomerengemisch in der gleichen Zusammensetzung wie Edukte konnte isoliert werden.

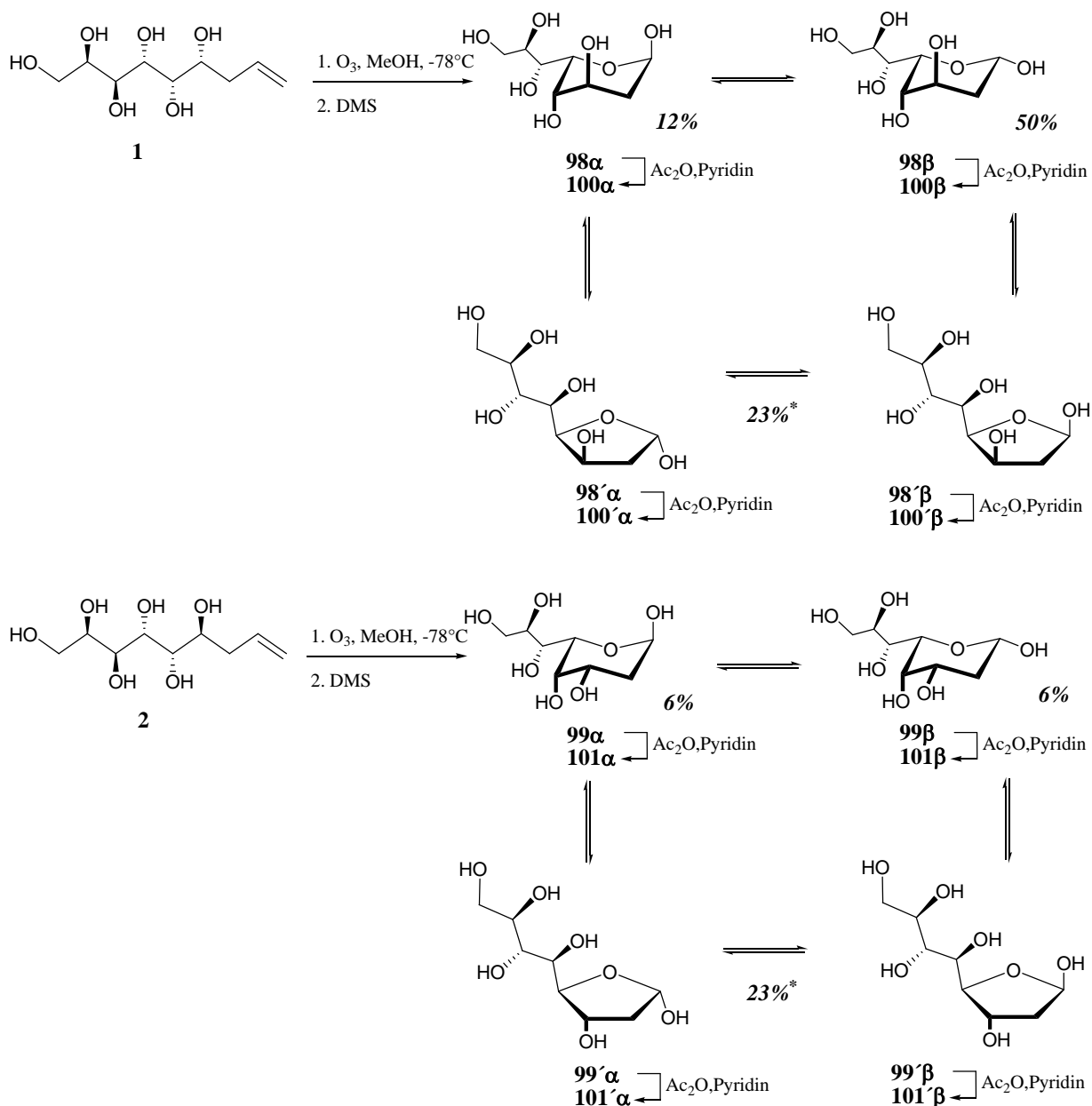


**Abb. 41:** Synthese von 2-Desoxy-D-glycero-D-galacto-octose (**94**) und 2-Desoxy-D-glycero-D-gulo-octose (**95**)

Mit den aus D-Glucose erhaltenen Diastereomeren **1/2** wurde entsprechend ein Gemisch von 2-Desoxy-D-glycero-D-ido-octose (**98**) und 2-Desoxy-D-glycero-D-gulo-octose (**99**) im Verhältnis 6:1 erhalten (**Abb. 43**). Mit den bereits bei **94/95** gewonnenen spektroskopischen Daten konnte eine plausible Signalzuordnung der anomeren Protonen erreicht werden (**Abb. 42, B**). Aufgrund der stereochemischen Analogien zu **94/95** konnte die Zuordnung der Epimere **98/99** problemlos gestaltet werden. Wegen der axialen Anordnung der OH-Gruppen an C-3 und C-4 des Epimers **98** bzw. an C-4 von **99** und dem daraus resultierenden sterischen und elektronischen Destabilisierung beobachtete man neben den pyranoiden Strukturen im  $^1\text{H-NMR}$  auch die furanoide Form mit einem Anteil von 23%. Eine Signaldiskriminierung der Furanoide **98'/99'** in die einzelne Epimere bzw. Anomere war jedoch nicht möglich. Darüber hinaus wurde auch die offenkettige Aldehyd-Form in 2%-Anteil beobachtet. Auffälligster Unterschied im  $^1\text{H-NMR}$  war das Kopplungsmuster von **98β** im Vergleich zu **95β**. Mögliche anteilige Halbsessel oder Twist-Konformationen könnten zur Veränderung des Kopplungsmusters beitragen. Mittels Peracetylierung gelang es lediglich, aus dem Gemisch die Anomere **100β** und **101β** anzureichern. Im Falle von **114β** (**Abb. 42, C**) war dieser Effekt noch stärker zu beobachten. Hier wurde lediglich eine Kopplungskonstante von 6.2 Hz beobachtet, was als Argument für eine Konformationsänderung gewertet werden kann. Im Bereich von 5.75-5.50 ppm konnten dafür vier separierbare Signalmuster beobachtet werden, die aufgrund der tieferen Verschiebung den furanoiden Strukturen zuzuordnen sind.

**A****B****C**

**Abb. 42:** Ausschnitt aus den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren A-C zur Bestimmung der Epimeren- und Anomerenverhältnisse. **A:** 94α/β und 95α/β; **B:** 98α/β, 99α/β und 98'α/β, 99'α/β; **C:** 114α/β, 115α/β und 114'α/β, 115'α/β



**Abb. 43:** Synthese von 2-Desoxy-D-glycero-D-ido-octose (**98**) und 2-Desoxy-D-glycero-D-gulo-octose (**99**). \* - Gesamtanteil an furanoider Form

Die Umsetzung des analogen Diastereomerenpaares **9** und **10** lieferte quantitativ ein Gemisch aus 2-Desoxy-D-glycero-L-gluco-octose (**102**) und 2-Desoxy-D-glycero-L-manno-octose (**103**) im entsprechenden Verhältnis von 8:1 mit einem pyranoiden Anteil von 8% und der offenkettigen Form mit 5%. Eine Übersicht über die Gleichgewichtsverteilungen der einzelnen Komponenten der 2-Desoxy-Monosaccharide gibt **Tabelle 10** wieder. Auffallend ist das Vorliegen furanoider Formen bei den Verbindungen **98/99** und **102/103**. Durch die bereits erwähnte bis-axiale Anordnung der OH-Gruppen an C-3 und C-4 im Sechsring bildete



sich im Gleichgewicht zum Teil auch die sterisch weniger gespannte furanoide Form aus, wobei der Anteil im Falle von **102/103** im Vergleich zu **98/99** weniger stark ausfiel, was sich mit der Umkehr der Konfiguration am C-7 erklären lässt. Allerdings war im Falle von **102/103** auch ein höherer Anteil des offenkettigen Aldehyds zu beobachten.

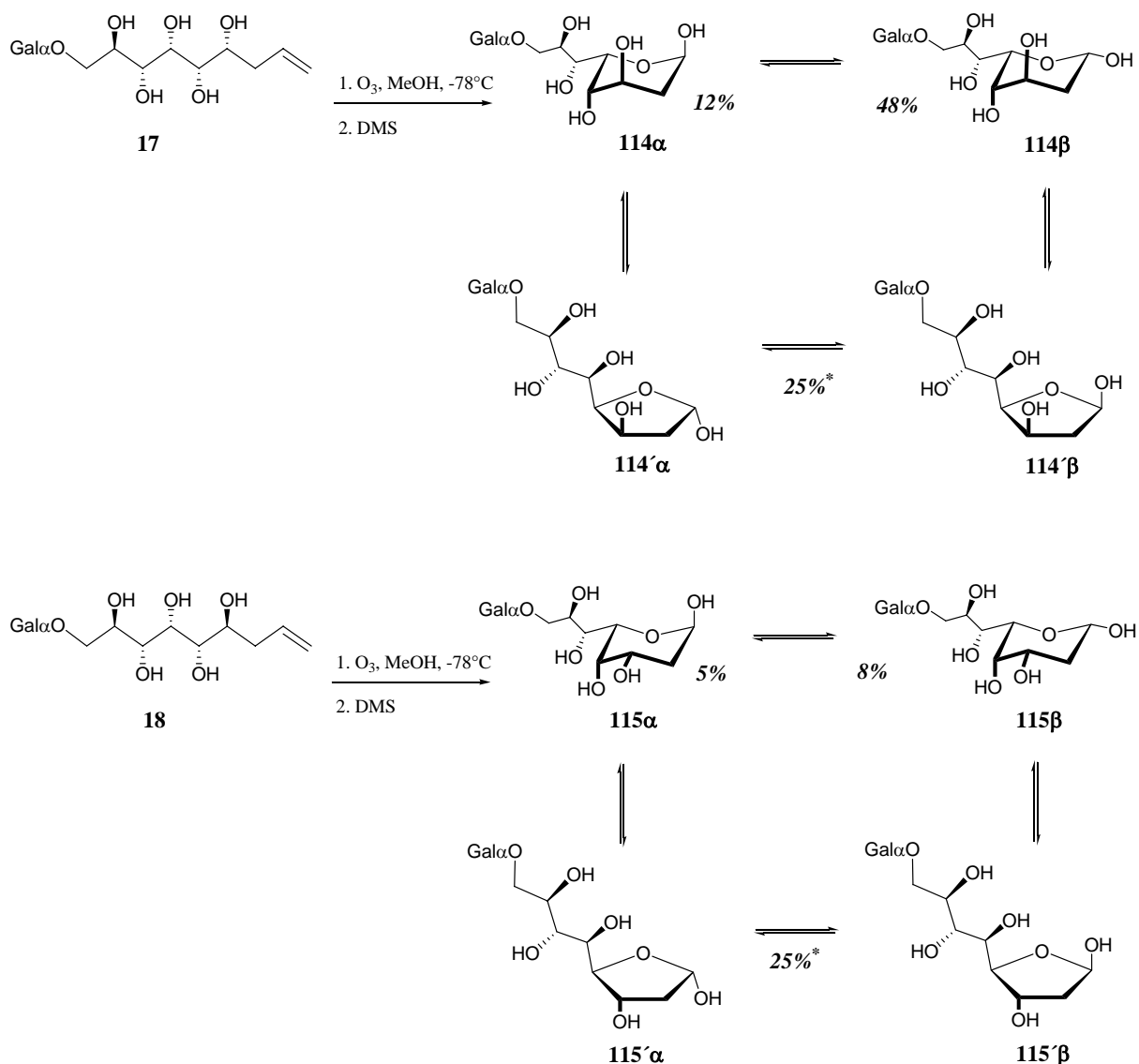
**Tab. 12:** Gleichgewichtsverteilung (%) der 2-Desoxy-Monosaccharide in wässriger Lösung

Monosaccharid	Diastereomerenpaar	$\alpha$ -Pyranose (%)	$\beta$ -Pyranose (%)	$\alpha/\beta$ -Furanose (%)	Aldehyd (%)
D-Mannose	<b>5</b>	42 ( <b>94<math>\alpha</math></b> )	41 ( <b>94<math>\beta</math></b> )	-	<1
	<b>6</b>	3 ( <b>95<math>\alpha</math></b> )	14 ( <b>95<math>\beta</math></b> )	-	
D-Glucose	<b>1</b>	13 ( <b>98<math>\alpha</math></b> )	50 ( <b>98<math>\beta</math></b> )	23* ( <b>98'<math>\alpha/\beta</math></b> )	2
	<b>2</b>	6 ( <b>99<math>\alpha</math></b> )	6 ( <b>99<math>\beta</math></b> )	( <b>99'<math>\alpha/\beta</math></b> )	
D-Galactose	<b>9</b>	14 ( <b>102<math>\alpha</math></b> )	56 ( <b>102<math>\beta</math></b> )	8* ( <b>102'<math>\alpha/\beta</math></b> )	5
	<b>10</b>	8 ( <b>103<math>\alpha</math></b> )	9 ( <b>103<math>\beta</math></b> )	<b>103'<math>\alpha/\beta</math></b>	

\* - Gesamtanteil an furanoiden Strukturen

Entsprechend den Mono-desoxy-Komponenten wurden nach Ozonolyse und reduktiver Aufarbeitung von **13/14** (D-Maltose), **23/24** (D-Lactose) und **25/26** (D-Cellobiose) die 2-Desoxy-1,6-verknüpfte Disaccharide als Diastereomeren- bzw. Epimerenpaare **106/107** und **110-113** erhalten. Analoge Umsetzungen von **17/18** (D-Melibiose, **Abb. 42**), **21/22** (D-Isomaltose) und **27/28** (D-Gentibiose) lieferten die 2-Desoxy-1,8-verknüpften Disaccharide **114/115** und **118-121** (**Tabelle 13**). Die Verteilung der einzelnen Komponenten im Gleichgewicht stimmte mit der relevanten zuvor aus der Glucose über **1/2** synthetisierten 2-Desoxy-octose **98/99** ziemlich gut überein (siehe **Tabelle 12**). Auch der furanoide Anteil der Verbindungen entsprach ungefähr dem bei **98/99**. Durch den zunehmenden sterischen Anspruch der Glycosyl-Substituenten kann es wie im Fall von 1,6-verknüpften Verbindungen **110-113** zur zunehmenden Bevorzugung der Furanosebildung kommen. Eine Ausnahme bildete hier das Epimerenpaar **106/107**, wo eine Verringerung des furanoiden Anteils zu beobachten war. Eine zunehmende Entfernung des Glycosyl-Substituenten wie im Falle der 1,8-verknüpften Disaccharide **114/115** und **118-121** schien dagegen keinen signifikanten Einfluss zu haben. Der Anteil der offenkettigen Aldehydform der 2-Desoxy-Disaccharide im Gleichgewicht war bis auf **114/115** höher als bei **98/99**. Dies schien ebenso im

Zusammenhang mit dem sterischen Anspruch der Substituenten und deren Entfernung vom anomeren Zentrum zu sein. Je näher der Substituent (1,6-Verknüpfung), desto höher anteilig die offenkettige Aldehydform.



**Abb. 44:** Beispielhafte Synthese von 8-*O*-α-D-Galactosyl-2-desoxy-D-glycero-D-ido-octose (**114**) und 8-*O*-α-D-Galactosyl-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octose (**115**). \* - Gesamtanteil an furanoider Form

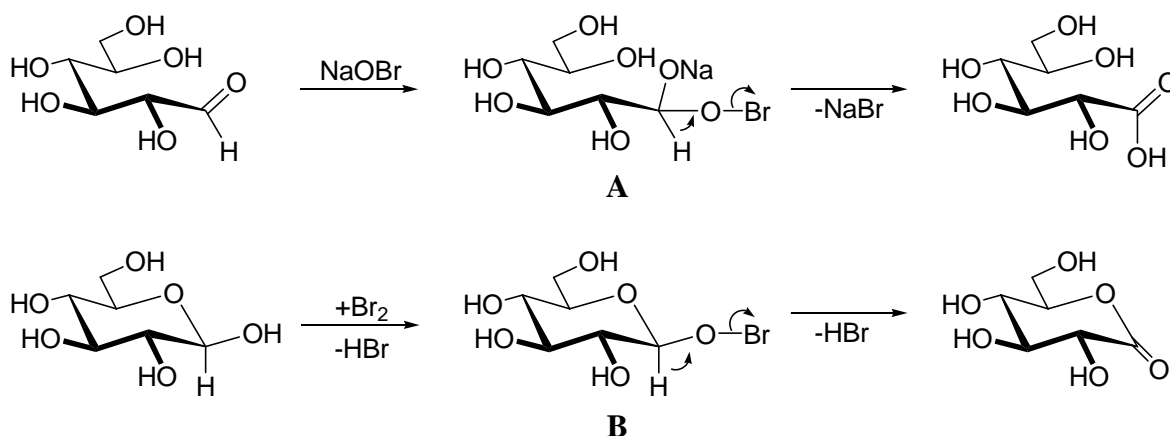
**Tab. 13:** Gleichgewichtsverteilung (%) der 2-Desoxy-Disaccharide in wässriger Lösung.

Disaccharid (Verknüpfung)	Diastereo- merenpaar	$\alpha$ -Pyranose (%)	$\beta$ -Pyranose (%)	$\alpha/\beta$ Furanose (%)	Aldehyd (%)
D-Maltose	<b>13</b>	10 ( <b>106<math>\alpha</math></b> )	62 ( <b>106<math>\beta</math></b> )	11* ( <b>106'<math>\alpha/\beta</math></b> )	8
Glc( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 4)Glc	<b>14</b>	4 ( <b>107<math>\alpha</math></b> )	5( <b>107<math>\beta</math></b> )	( <b>107'<math>\alpha/\beta</math></b> )	
D-Lactose	<b>23</b>	11 ( <b>110<math>\alpha</math></b> )	33 ( <b>110<math>\beta</math></b> )	34* ( <b>110'<math>\alpha/\beta</math></b> )	10
Gal( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4)Glc	<b>24</b>	6 ( <b>111<math>\alpha</math></b> )	6 ( <b>111<math>\beta</math></b> )	( <b>111'<math>\alpha/\beta</math></b> )	
D-Cellobiose	<b>25</b>	11 ( <b>112<math>\alpha</math></b> )	37 ( <b>112<math>\beta</math></b> )	30* ( <b>112'<math>\alpha/\beta</math></b> )	11
Glc( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4)Glc	<b>26</b>	6 ( <b>113<math>\alpha</math></b> )	5 ( <b>113<math>\beta</math></b> )	( <b>113'<math>\alpha/\beta</math></b> )	
D-Melibiose	<b>17</b>	12 ( <b>114<math>\alpha</math></b> )	48 ( <b>114<math>\beta</math></b> )	25* ( <b>114'<math>\alpha/\beta</math></b> )	2
Gal( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 6)Glc	<b>18</b>	5 ( <b>115<math>\alpha</math></b> )	8 ( <b>115<math>\beta</math></b> )	( <b>115'<math>\alpha/\beta</math></b> )	
D-Isomaltose	<b>21</b>	12 ( <b>118<math>\alpha</math></b> )	46 ( <b>118<math>\beta</math></b> )	25* ( <b>118'<math>\alpha/\beta</math></b> )	5
Glc( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 6)Glc	<b>22</b>	5 ( <b>119<math>\alpha</math></b> )	7 ( <b>119<math>\beta</math></b> )	( <b>119'<math>\alpha/\beta</math></b> )	
D-Gentibiose	<b>27</b>	14 ( <b>120<math>\alpha</math></b> )	50 ( <b>120<math>\beta</math></b> )	15* ( <b>120'<math>\alpha/\beta</math></b> )	7
Glc( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 6)Glc	<b>28</b>	7 ( <b>121<math>\alpha</math></b> )	7 ( <b>121<math>\beta</math></b> )	( <b>121'<math>\alpha/\beta</math></b> )	

\* - Gesamtanteil an furanoiden Strukturen

### 3.2.3 Oxidation zu 2-Desoxy-glyconsäuren bzw. 2-Desoxy-glyconolactonen

Die ursprünglich für den qualitativen und quantitativen Zucker-Nachweis von Mono- und Oligosacchariden mit reduzierendem Ende eingesetzte Oxidation mit Brom oder Iod ist aus präparativer Sicht noch heute eine wertvolle Methode zur Synthese von Glyconsäuren und Glyconsäure-Derivaten. Die Ausbeuten der Brom-Oxidation von Aldosen sind sehr gut<sup>[226]</sup>. Solche Reaktionen mit Brom oder Hypobromit können auf zweierlei Art formuliert werden (**Abb. 45**).

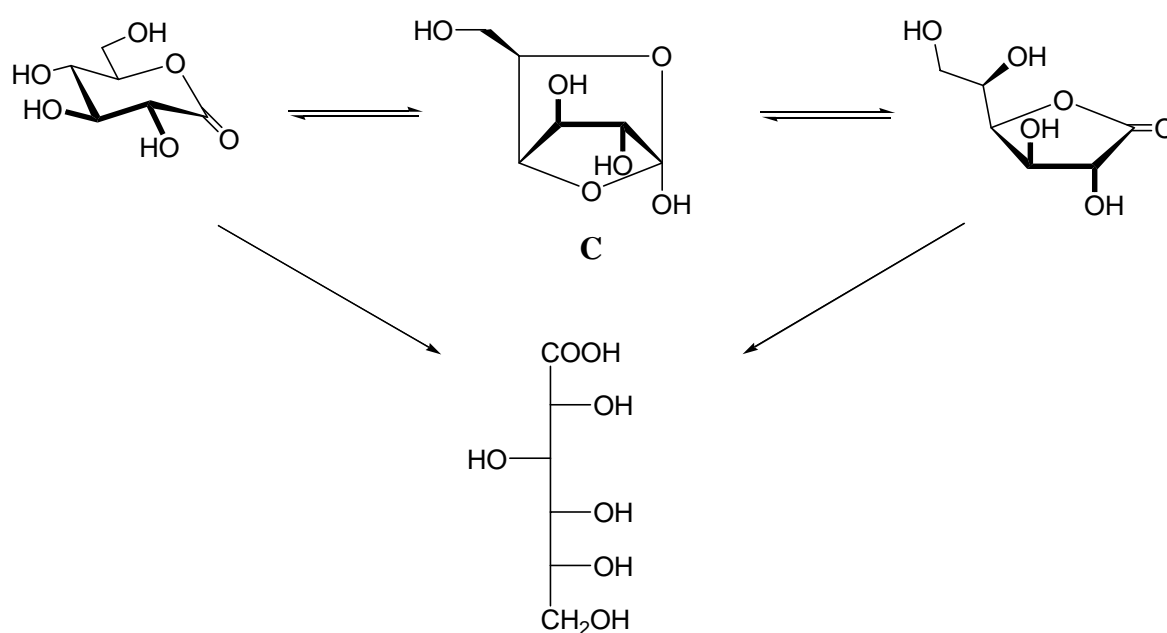


**Abb. 45:** Oxidation von D-Glucose mit Natriumhypobromit und Br<sub>2</sub>

Beide Fälle sind charakterisiert durch die Zwischenstufen **A** und **B**, in denen ein H-Atom an ein stark elektrophiles C-Atom gebunden ist. Es erfolgt jeweils die Eliminierung von Bromwasserstoff, unterstützt durch das gepufferte Medium. Der charakteristische Unterschied in den Reaktionsgeschwindigkeiten der zwei Formen beweist die Oxidation der cyclischen Struktur über die Zwischenstufe **B**. Da in Lösung nebeneinander verschiedene oxidierende Spezies vorhanden sind, kann ein detaillierter Mechanismus nicht angegeben werden. Die Proportionalität der Oxidationsgeschwindigkeit mit der Hydroxyl-Ionenkonzentration im pH-Bereich 3 bis 7, wie sie im Falle der Brom-Oxidation der D-Glucose und anderer Aldosen nachgewiesen wurde<sup>[227]</sup>, lässt mehrere Deutungen zu. Man darf vermuten, dass stereoelektronische Effekte im Spiel sind. Eine antiperiplanare Anordnung von freien Elektronenpaaren begünstigt den Austritt des axialen H-Atoms am anomeren C-Atom<sup>[228]</sup>. Die Brom-Oxidation kann wegen der großen Unterschiede in den Reaktionsgeschwindigkeiten auch zur Bestimmung von Anomeren-Gleichgewichten herangezogen werden.

Je nach Bedingung bei der Oxidationsreaktion und je nach Art der Aufarbeitung kann als überwiegendes Produkt entweder das Salz der freien Glyconsäure, das  $\delta$ - oder des  $\gamma$ -Lacton

gewonnen werden. Das primäre Oxidationsprodukt ist bei einer Pyranose das  $\delta$ -Lacton, welches sich schließlich entsprechend dem Milieu mit dem  $\gamma$ -Lacton und mit der freien Säure ins Gleichgewicht setzt. Bei pH-Werten über 3 liegt das Gleichgewicht vorwiegend auf der Seite der Glyconsäure bzw. ihres Salzes. Dass die Zusammensetzung der Reaktionsmischung unmittelbar nach der Brom-Oxidation auch bei höheren pH-Werten (3-7) stark von diesem Gleichgewicht zugunsten der Lactone abweicht, spricht für eine direkte Umwandlung der Lactone ineinander. Als Zwischenstufe wird die bicyclische Orthoester-artige Struktur **C** vermutet.



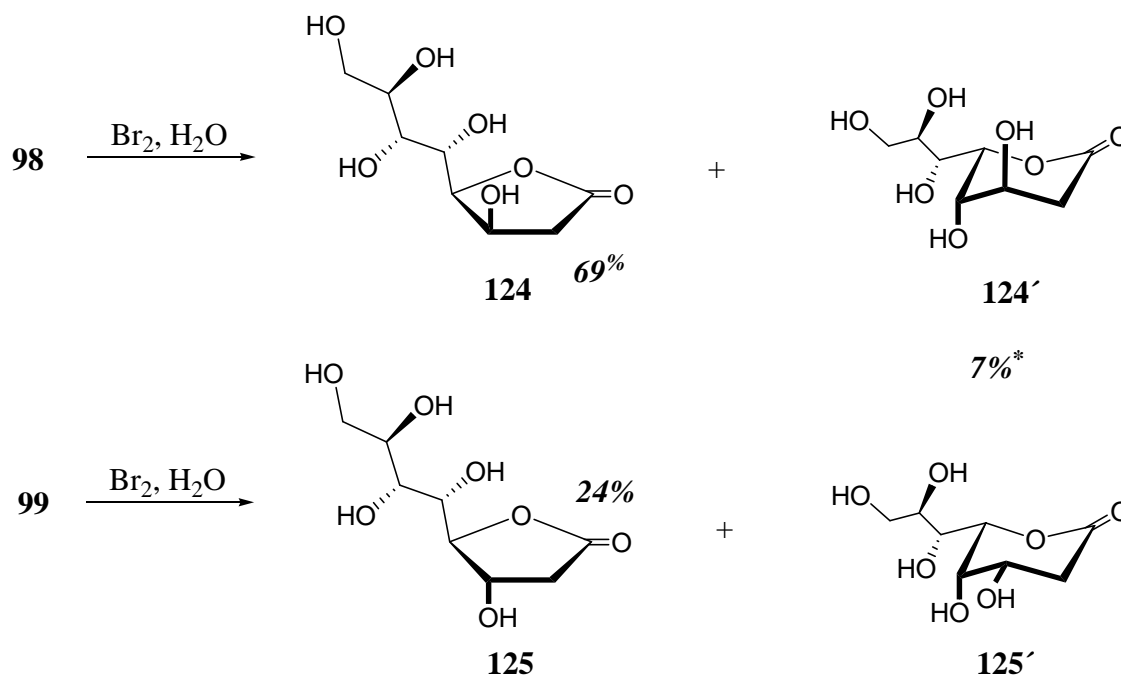
**Abb. 46:** Gleichgewicht zwischen  $\delta$ -Lacton,  $\gamma$ -Lacton und Glyconsäure

Fünfgliedrige Strukturen der  $\gamma$ -Lactone werden auf Grund ihrer Geometrie bezüglich der Bindungslängen, Bindungswinkeln und vor allem der Koplanarität, beruhend auf der partiell konjugierten C-C(=O)-O-C Atomsequenz, favorisiert.  $\delta$ -Lactone andererseits bevorzugen eine Halbsessel- oder Bootkonformation: ein Kompromiss, in dem normale Sesselkonformationen in der Richtung deformiert werden, welche nur eine partielle Abflachung in der Region des Lactonzentrums zulassen.

Im Rahmen der eigenen Untersuchungen sollte zuerst versucht werden, aus den synthetisierten 2-Desoxy-Monozuckern entsprechende 2-Desoxyocatonlactone zu erhalten, um anschließend die Methode auf die wertvolleren glycosylierten 2-Desoxyocatonlactone übertragen zu können. Ziel der Synthesen war es, durch Planarisierung des anomeren

Chiralitätszentrums eine Vereinfachung der komplexen Diastereomerengemische vorzunehmen. Die Fixierung der Ringgröße sollte durch Vereinfachung des Kopplungsmusters der 2-H-Protonen eine spektroskopische Auswertung erleichtern.

Die Oxidation der aus D-Mannose und D-Glucose erhaltenen 2-Desoxykomponenten lieferten die entsprechenden diastereomeren Lactone **122/123** und **124/125** in 50 bzw. 54 % isolierter Ausbeute. Hierbei wurden die jeweiligen Komponenten **94/95** und **98/99** in Wasser gelöst, mit 2-2.4 Äquivalenten  $\text{Br}_2$  versetzt und für 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Dünnschichtchromatographische Kontrollen zeigten vollständigen Umsatz an. Nach Neutralisieren mit basischen Ionentauscher und Einengen wurden die entsprechenden Lactone als Feststoffe erhalten. Durch den 2-fachen Überschuss von Brom und den damit stärker sauren Bedingungen im Reaktionsgemisch könnte es zur Zunahme des Anteils der freien Säure kommen. Bei einem zu großen Überschuss des während der Neutralisation eingesetzten basischen Ionentauschers könnte somit ein Teil dieser freien Säure an den Ionentauscher gebunden werden und dem Produktgemisch entzogen werden, was sich anschließend auf die nur befriedigende Ausbeuten auswirkte.



**Abb. 47:** Beispielhafte Oxidation von **98/99** mit  $\text{Br}_2$  in Wasser

Höhere Ausbeute von 83% ergab dagegen die Oxidation des aus D-Galactose synthetisierten Diastereomerengemisches **102/103** zu **126/127**. Hierbei wurden, wie auch anhand einer

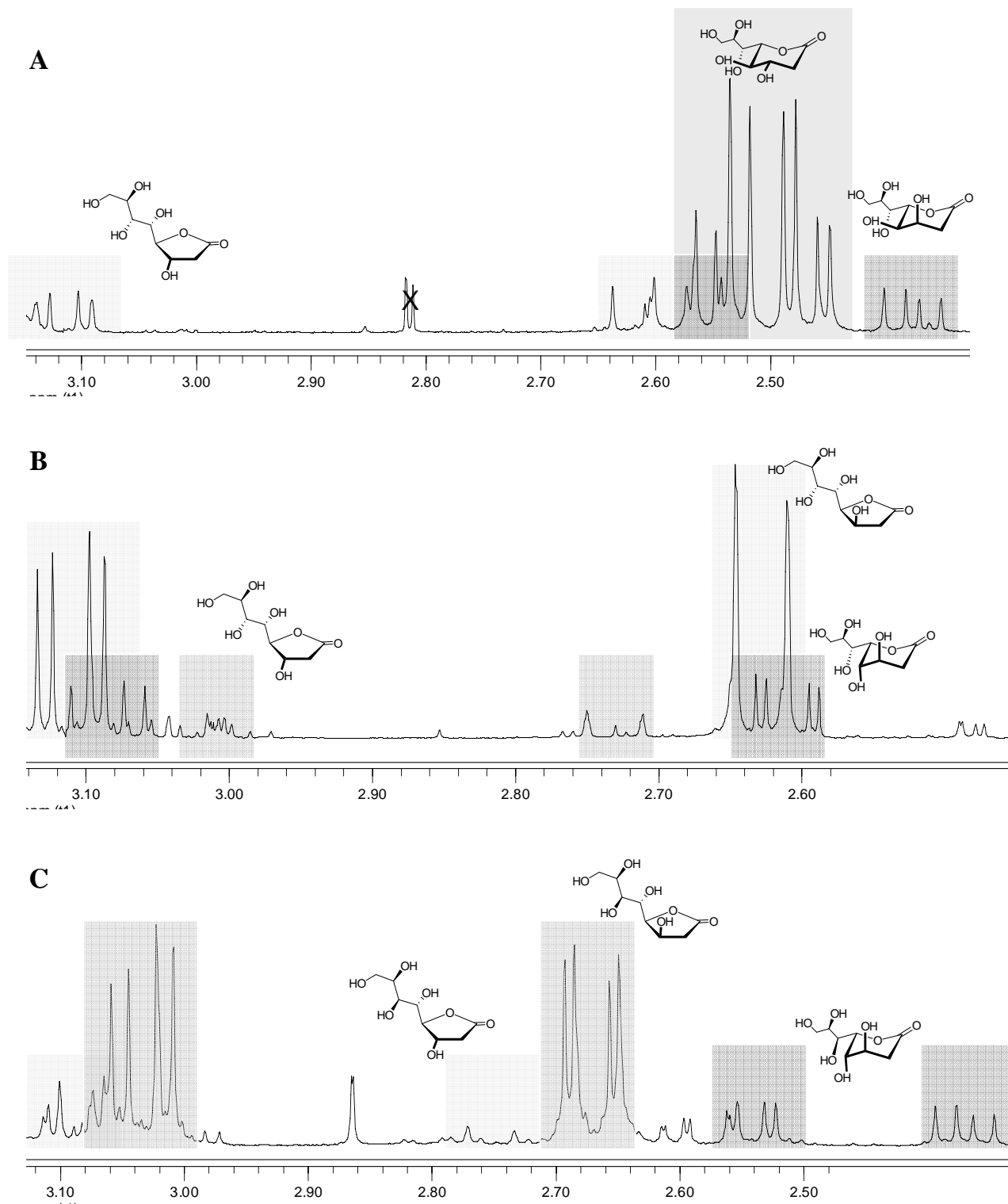
exemplarischen Bromoxidation des aus D-Melibiose erhaltenen Diastereomerenpaares **114/115**, lediglich 1.2 Äquivalente Br<sub>2</sub> eingesetzt. Trotz der leicht saueren Bedingungen wurde die glycosidische Bindung nicht hydrolysiert. Das an Position C-8 Galactosyl-substituierte Lactongemisch **128/129** wurde in guten Ausbeuten von 90% erhalten. Somit lassen sich die Bromoxidation auch auf Disaccharide übertragen und wertvolle neue Synthesebausteine herstellen.

Die synthetisierten Lactone lagen alle als  $\gamma/\delta$ -Lacton-Gemische vor (**Tabelle 14**). Die Bestimmung der einzelnen Komponenten wurde durch Spektrenvergleich der Methylen-Protonen am C-2 vorgenommen (**Abb. 48**). Im Falle von **128/129** konnte eine Differenzierung nicht vorgenommen werden. Eine Trennung der einzelnen Epimere wurde aufgrund zu geringer *R<sub>f</sub>*-Werte nicht vorgenommen.

**Tab. 14:** Gleichgewichtsverteilung (%) zwischen  $\gamma$ -Lacton,  $\delta$ -Lacton in wässriger Lösung.

Monosaccharid	2-Desoxy-Epimere	$\gamma$ -Lacton (%)	$\delta$ -Lacton (%)	Ausbeute
D-Mannose	<b>94</b>	16* ( <b>122</b> )	67 ( <b>122'</b> )	50
	<b>95</b>	( <b>123</b> )	17 ( <b>123'</b> )	
D-Glucose	<b>98</b>	69 ( <b>124</b> )	7* ( <b>124'</b> )	54
	<b>99</b>	24 ( <b>125</b> )	( <b>125'</b> )	
D-Galactose	<b>102</b>	77 ( <b>126</b> )	9* ( <b>126'</b> )	83
	<b>103</b>	14 ( <b>127</b> )	( <b>127'</b> )	
D-Melibiose	<b>114</b>	** ( <b>128</b> )	** ( <b>128'</b> )	90
	<b>115</b>	( <b>129</b> )	( <b>129'</b> )	

\* - Gesamtanteil. \*\*-Differenzierung nicht möglich



**Abb. 48:** Ausschnitt aus den  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren A-C zur Bestimmung der  $\gamma/\delta$ -Lacton-Anteile.

**A:** 122/123 und 122'/123'; **B:** 124/125 und 124'/126'; **C:** 126/127 und 126'/127'



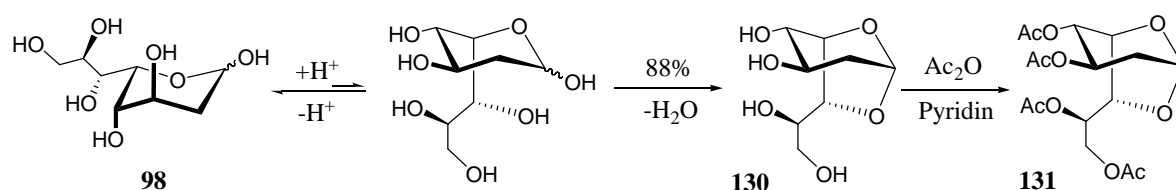
### 3.2.4 Fischer-Glycosid-Synthese

#### 3.2.4.1 Herstellung von Methyl-2-desoxyglycosiden

Bei der klassischen Fischer-Glycosid-Synthese löst man das Monosaccharid in einem Überschuss des Alkohols, dem meistens einige Prozent trockenen Chlorwasserstoff zugesetzt worden sind. Man erhitzt die Mischung so lange, bis die polarimetrische oder dünnschichtchromatographische Kontrolle keinen Umsatz mehr anzeigt. Eine praktische Variante basiert auf der Verwendung von sauren Ionentauschern, da der Katalysator nach Beendigung der Reaktion durch Filtration leicht entfernt werden kann.

Je nach Reaktionsdauer und Temperatur unterscheidet sich die Zusammensetzung der Reaktionsmischung. Bereits nach kurzer Zeit bilden sich aus dem freien Monosaccharid bei Raumtemperatur meist fast ausschließlich die Furanoside, da deren Bildung gegenüber der von Pyranosiden kinetisch begünstigt ist. Erst unter Gleichgewichtsbedingungen überwiegen die Pyranoside dank ihrer größeren thermodynamischen Stabilität. Die Möglichkeit der kinetischen Kontrolle macht die Fischer-Glycosidierung zu einer der wenigen Methoden, Furanoside auf direktem Wege herzustellen, wenn die Reaktion am Maximum der Furanosid-Bildung abgebrochen wird. Die rasche Bildung der Furanoside steht im Einklang mit dem allgemein leichter erfolgenden Ringschluss zu gesättigten Fünfringen als zu Sechsringen. Daneben sind auch noch sterische und elektrostatische Faktoren zu berücksichtigen.

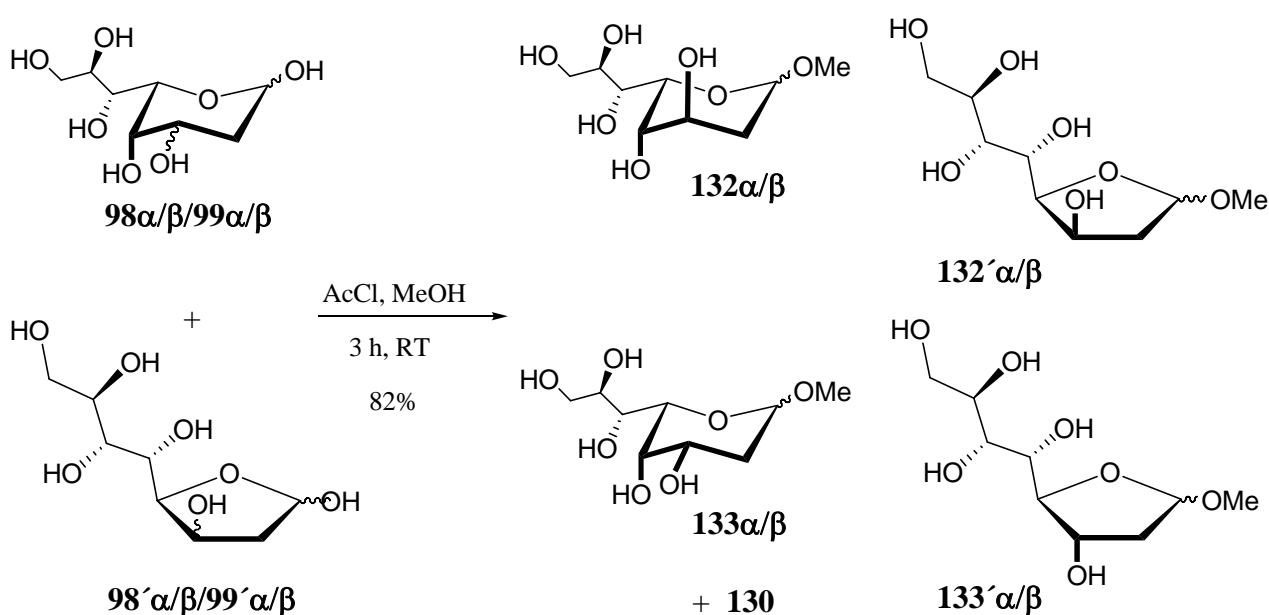
Im Rahmen der eigenen Untersuchungen sollte zur Fixierung der anomeren Konfiguration und Verbesserung einer möglichen chromatographischen Trennung versucht werden, zuerst Methyl-Glycoside der 2-Desoxyoctosen herzustellen. Zu Voruntersuchung wurde **98/99** in Wasser unter sauren Bedingungen 24 h lang bei 70°C erhitzt. Hierbei wurde die Bildung eines neuen Produktes beobachtet, dessen Spektrendaten nach Peracetylierung allerdings eher mit dem literaturbekannten 1,6-Anhydro-3,4,7,8-tetra-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-*erythro*-L-*gulo*-octopyranosid **131** übereinstimmte<sup>[187]</sup>.



**Abb. 49:** Bildung von 1,6-Anhydro-2-desoxy- $\beta$ -D-*erythro*-L-*gulo*-octopyranosid **130**

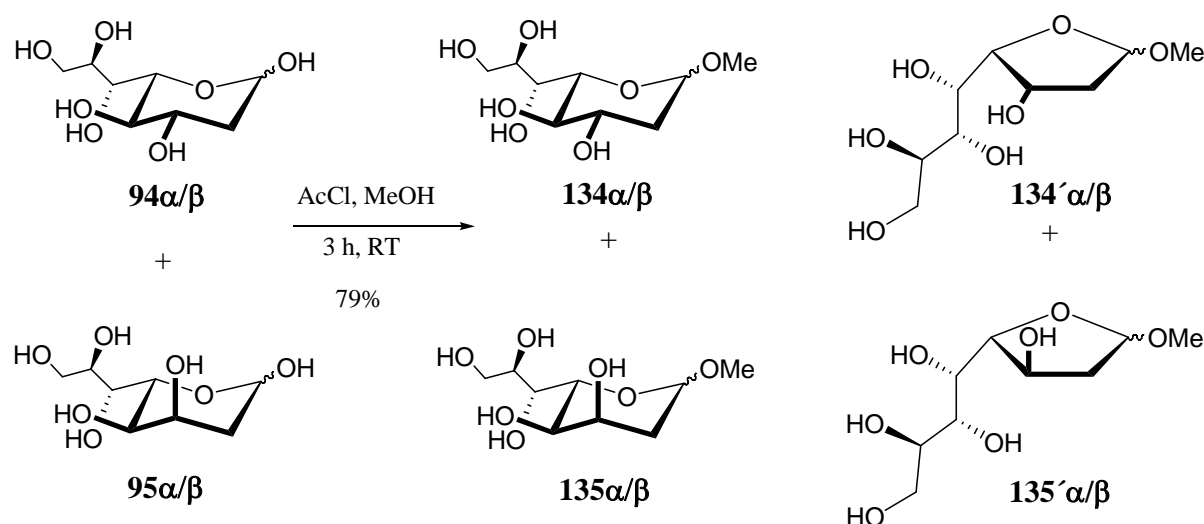
Mit den gewonnenen NMR-Daten konnte allerdings die Bildung von Nebenprodukten bei der Methyl-Glycosidierung leichter verfolgt werden. Erfolgreiche Methyl-Glycosidbildung von empfindlichen 2-Desoxymonosacchariden wurden von *Rauter et al.* durch Zugabe von AcCl als HCl-Quelle<sup>[229]</sup> bzw. von *Marek* durch Einsatz von H<sup>+</sup>-Ionentauscher<sup>[230]</sup> beschrieben. Insbesondere die erstere Methodik wurde wegen der homogenen Reaktionsführung bevorzugt auf die eigenen 2-Desoxy-octosen angewandt.

Bei der Umsetzung von **98/99** in MeOH mit AcCl als HCl-Quelle wurden erwartungsgemäß die entsprechenden Anomerengemische der Methylglycoside **132/133** erhalten. Aus NMR-spektroskopischen Daten konnte allerdings auch die Bildung der 1,6-Anhydro-2-desoxy- $\beta$ -D-*erythro*-L-*gulo*-octopyranosids **130** (>20%) beobachtet werden (**Abb. 50**). Dies bedeutet, dass unter sauren Bedingungen neben der Glycosidierung am anomeren Zentrum mit externem Nucleophil MeOH aufgrund der Inversion der Sechsringskonformation von  $^1C_4$  zu  $^4C_1$  eine intramolekulare 1,6-Anhydro-Ausbildung als Nebenreaktion ausreichende Chancen hat. Eine präparative chromatographische Trennung der einzelnen Komponenten gelang jedoch nur partiell. Hierbei gelang aus der ersten Fraktion die Isolierung eines Gemischs aus **132 $\alpha$ /130** 79:21. Als zweite Fraktion wurde eine Mischung aus **132 $\alpha$ /132 $\beta$ /130** 42:26:32 isoliert. Zuletzt gelang die Isolierung von **132 $\beta$**  als Hauptkomponente. Aufgrund der Komplexität der Spektren war keine eindeutige Charakterisierung der furanoiden Methylglycoside **132'/133'** möglich.



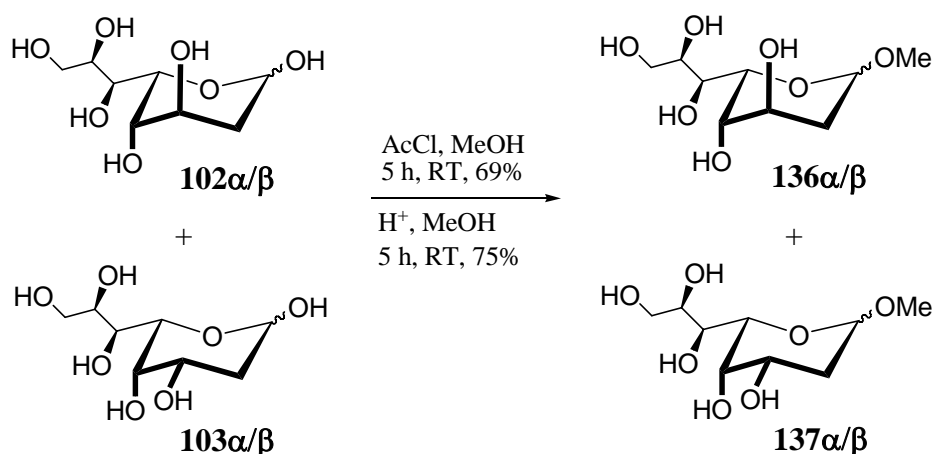
**Abb. 50:** Methylglycosidbildung aus **98/99**

Bei der Umsetzung der epimeren 2-Desoxyoctosen **94/95** unter gleichen Reaktionsbedingungen bildeten sich die entsprechenden Methylglycoside **134/135** bzw. **134'/135'**. Die Komplexität der NMR-Spektren machten eine Bestimmung der einzelnen Komponenten im Rohgemisch unmöglich. Auf eine präparative Trennung wurde hier verzichtet.



**Abb. 51:** Methylglycosidbildung aus **94/95**

Im Gegensatz zur Umsetzung von **98/99**, wo als Nebenprodukt die 1,6-Anhydro-Verbindung **130** anfällt, konnte bei der Glycosidierung von **94/95**, einem konfigurativen nicht unähnlichen Desoxy-Baustein, allerdings keine Bildung eines analogen Anhydrids nachgewiesen werden.



**Abb. 52:** Methylglycosidbildung aus **102/103**

Entsprechende Umsetzungen der aus D-Galactose erhaltenen Desoxy-Zucker **102/103** lieferten die Methylglycoside **136/137** als Diastereomerenmisch (Abb 52.). Hierbei lagen die Verbindungen fast ausschließlich in der pyranoiden Form vor. Vorhandene furanoide Strukturen konnten im NMR-Spektrum lediglich als Spuren nachgewiesen werden. Versuche zur Umsetzung in MeOH mit  $H^+$ -Ionentauscher anstatt AcCl lieferten identische Ergebnisse.

Die Glycosidierung des Disaccharidgemischs **114/115** verlief nach der in Abb. 53 gezeigten Umsetzung, ohne dass Hydrolyse beobachtet wurde. Anscheinend war die glycosidische Bindung der Edukte unter den getesteten Bedingungen stabil genug. Allerdings wurde wie bei den konfigurativen identischen Desoxyzuckern **98/99** neben der Bildung der Produkte **138/139** auch die intramolekulare 1,6-Anhydro-Glycosidbildung zu den epimeren Nebenprodukten **140/141** beobachtet. Im Falle der Umsetzung mit AcCl bei Raumtemperatur lag nach vollständigem Umsatz ein Verhältnis von 52:48 vor. Führt man die Glycosidierung mit  $H^+$ -Ionentauscher bei 60°C durch, so erfolgte sogar vollständige intramolekulare 1,6-Anhydro-Glycosidbildung zu **140/141**.

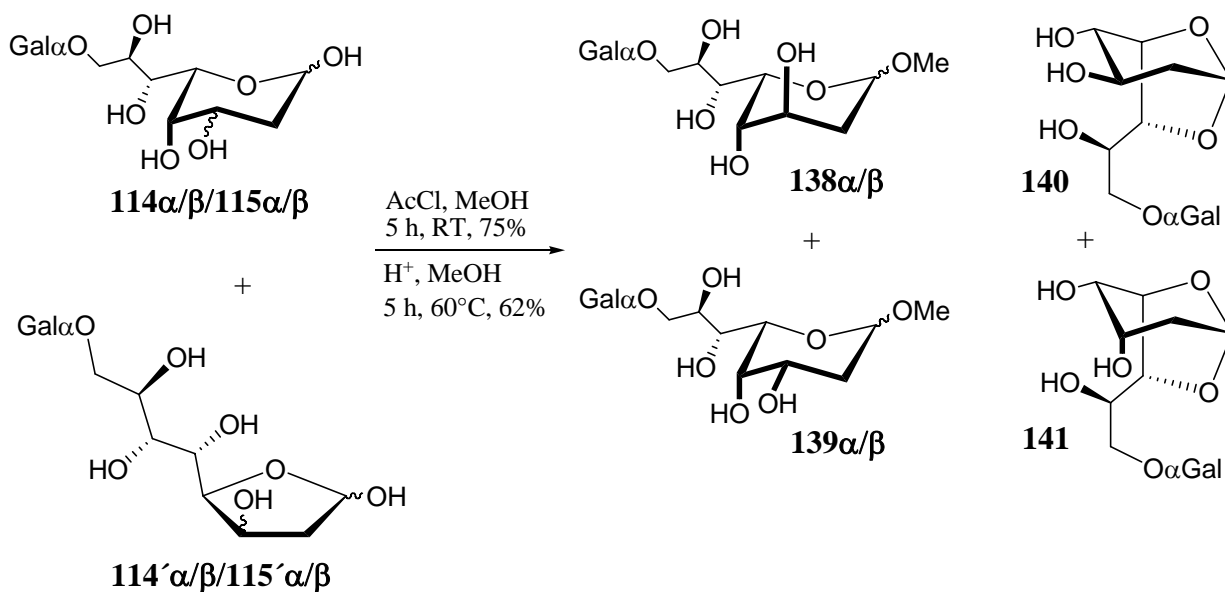


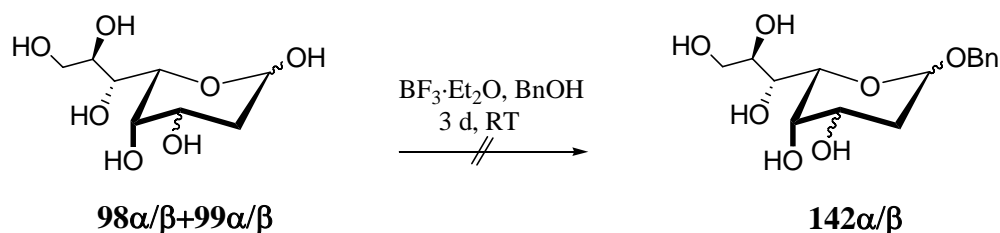
Abb. 53: Methylglycosidbildung aus **114/115**

Die Methylglycosidsynthesen verliefen allgemein in guten Ausbeuten und waren bereits nach 3 h vollständig abgeschlossen. Eine Trennung der einzelnen Komponenten erwies sich als unbefriedigend. Im Falle der Umsetzungen von **98/99** und **114/115** ist die intramolekulare 1,6-Anhydro-Glycosidbildung sogar die vorherrschende Reaktion, wobei eine Temperaturerhöhung dies zusätzlich beschleunigt und ausschließlich die unerwünschte 1,6-Anhydro-Glycoside erhalten werden.

### 3.2.4.2 Herstellung von Benzyl-2-desoxyglycosiden

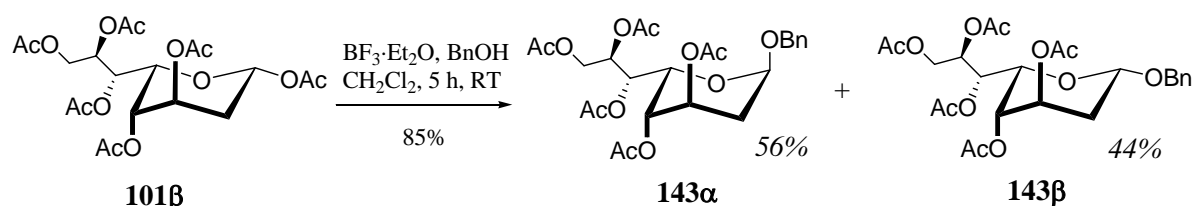
Wegen der zu geringen Unterschiede in den physiko-chemischen Eigenschaften der einzelnen Anomere bzw. Epimere der Methylglycoside war es nicht gelungen, diese Komponenten mittels präparativer Chromatographie aus dem Reaktionsgemisch einzeln zu isolieren und zu charakterisieren. Da zu vermuten war, dass ein sterisch anspruchsvolleres hydrophobes Aglykon die physiko-chemischen Eigenschaften der einzelnen Komponenten stärker differenzieren würde und somit Letztere besser trennbar würden, lag es nahe, die Eigenschaften von korrespondierenden Benzylglycosiden zu erproben.

Der Versuch, das Gemisch **98/99** durch Einwirkung von  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  in Benzylalkohol bei Raumtemperatur zu glycosidieren, scheiterte zunächst (**Abb. 54**). Eine mögliche Begründung ist sicher in der schlechten Löslichkeit der Edukte in Benzylalkohol bei Raumtemperatur zu vermuten. Auf eine höhere Temperatur wurde im Hinblick auf mögliche Nebenproduktbildung verzichtet, da sich unter sauren Bedingungen bekanntermaßen leicht die 1,6-Anhydro-Derivate, d. h. in diesem Fall **130**, bilden.



**Abb. 54:** Benzylglycosidbildung aus **98/99**

Ein indirekter Zugang zu Benzylglycosiden mit D-*glycero*-D-*ido*-Konfiguration eröffnete sich allerdings ausgehend von den Acetyl-geschützten 2-Desoxy-Zuckern **100** oder **101**. Hier gelang es beispielhaft, aus dem Edukt **101β** in 85% Ausbeute das entsprechende geschützte Benzylglycosid zu synthetisieren.



**Abb. 55:** Benzylglycosidbildung aus **101β**

Allerdings lieferte diese Methode keine anomenreinen Verbindungen, sondern lediglich  $\alpha/\beta$ -Gemische. Aufgrund des fehlenden Nachbargruppeneffekts konnte es somit zu keinem dirigierenden Einfluss kommen.

Die zuvor beobachtete schlechte Löslichkeit der Edukte **98/99** in BnOH bei Raumtemperatur sollte im Falle der D-glycero-D-galacto- (**94**) bzw. D-glycero-D-gulo- (**95**)-konfigurierten Zuckern durch eine Erhöhung der Temperatur verbessert werden, um somit eine direkte Benzylierung zu ermöglichen. Unter Säurekatalyse mit  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  in BnOH wurde aus dem Epimerengemisch **94/95** bei 80°C nach vollständigem Umsatz jedoch neben den gewünschten pyranoiden Anomerengemischen (72%) auch die kinetisch begünstigten furanoiden Benzylglycoside gefunden (13%). Außerdem wurde auch hier die Bildung eines intramolekular cyclisierten 1,6-Anhydrids (15%) beobachtet, dem aus Modellbetrachtungen vermutlich die Konstitution **146** zukommt. Beim Einsatz von saurem Ionentauscher bei 60°C wurden neben dem Nebenprodukt **146** (20%) ausschließlich die thermodynamisch stabilen Pyranoside **144** und **145** gebildet. Die schlechten Ausbeuten sind zum einen durch nicht optimierte Versuchsbedingungen und zum anderen durch Verluste bei der Säulenchromatographie zu erklären, wobei eine Aufreinigung nicht die gewünschte Trennung der Komponenten mit sich brachte. Weiterhin zeigte sich, dass eine längere Reaktionszeit erwartungsgemäß die thermodynamischen Pyranoside lieferte. Nachteilig wirkte sich jedoch die Temperaturerhöhung dadurch aus, dass neben der eigentlichen Benzylglycosidierung die intramolekulare 1,6-Anhydro-Glycosidierung als Nebenreaktion auftrat.

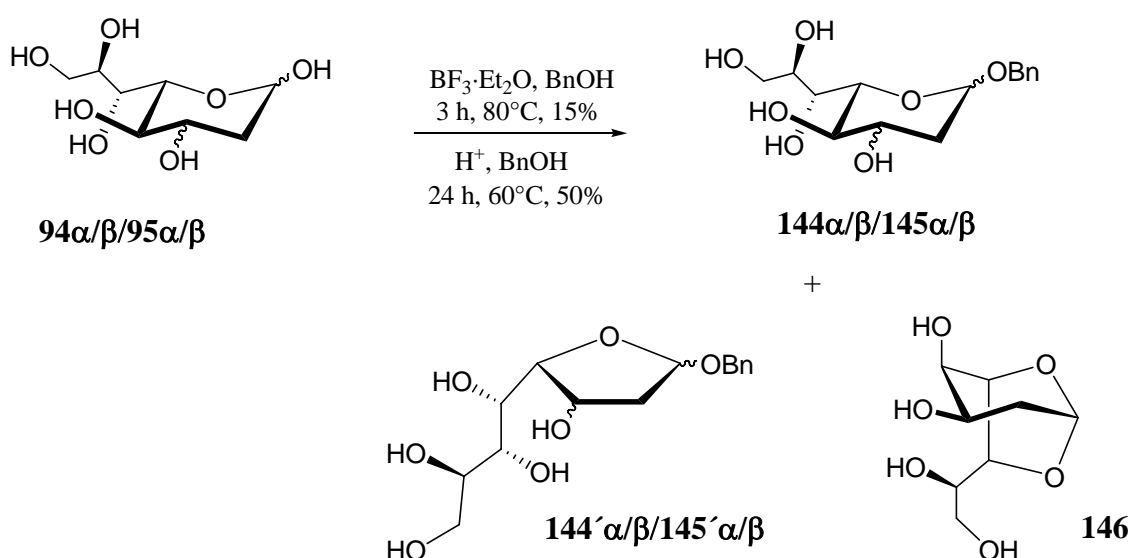
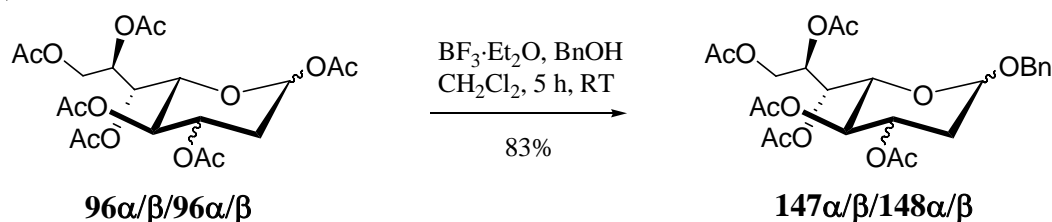


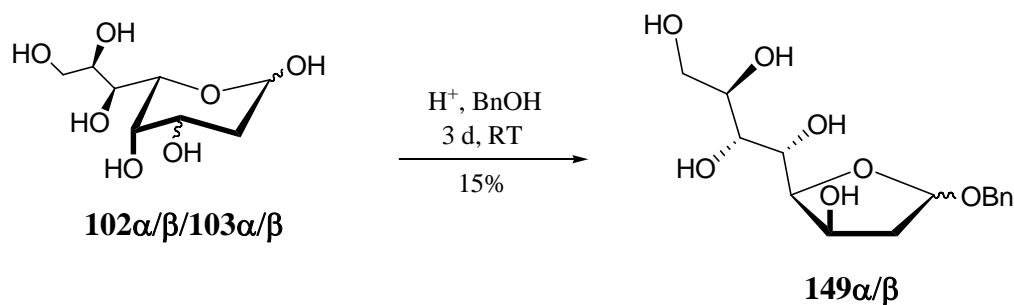
Abb. 56: Benzylglycosidbildung aus **94/95**

Aus den korrespondierenden geschützten Edukten **96/97** gelang es ebenfalls problemlos, Lewisäure-katalysiert die peracetylierten Benzylglycoside **147/148** in guter Ausbeute (83%) zu erzeugen. Eine chromatographische Trennung der einzelnen Komponenten aus dem Gemisch der  $\alpha/\beta$ -anomeren Glycoside der 3-Epimeren blieb jedoch erfolglos.



**Abb. 57:** Benzylglycosidbildung aus **96/97**

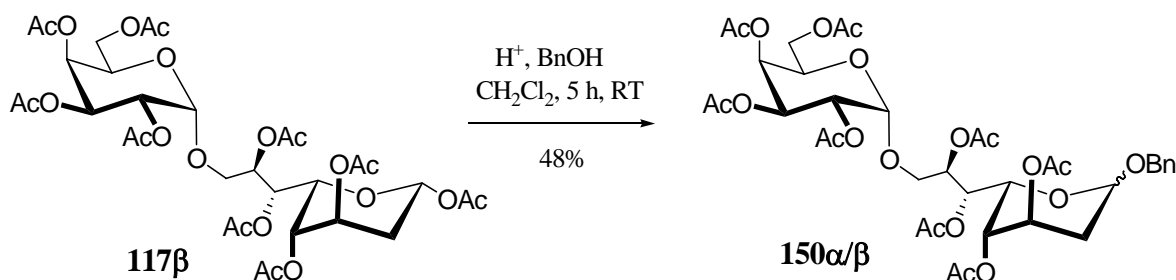
Die Benzylglycosidbildung aus den Desoxyzuckern mit D-glycero-L-gulo- (**102**) bzw. D-glycero-L-manno- (**103**)-Konfiguration wurde unter Katalyse mit saurem Ionentauscher bei Raumtemperatur durchgeführt. Trotz langer Reaktionszeit wurden nach Chromatographie lediglich 15% des kinetischen Furanosids **149** als Anomerengemisch ( $\alpha/\beta = 1:1$ ) isoliert. Hierbei war die Ursache der unbefriedigenden Ausbeute wiederum in der schlechten Löslichkeit des Edukts zu suchen sowie nicht optimierten Aufarbeitungsmethoden.



**Abb. 58:** Benzylglycosidbildung aus **102/103**

Wegen des Scheiterns bei den Trennversuchen benzylicher Glycoside wurde die Herstellung von Benzylglycosiden der Desoxy-Disaccharide nur noch exemplarisch durchgeführt und wegen der bereits bekannten Komplikation einer intramolekularen Cyclisierung auf einen Versuch zur Direktsynthese aus ungeschützten Bausteinen verzichtet. Die Umsetzung der anomerereinen Verbindung **117 $\beta$**  lieferte unter den Standardbedingungen zwar das entsprechende Anomerengemisch **150**, das aber nur in 48% Ausbeute isoliert werden konnte.

Hierbei könnte die Ausbeuteeinbußen zum einen durch mögliche saure Hydrolyse des Edukts **117 $\beta$**  als auch des gebildeten Disaccharids **150** erklärt werden.



**Abb. 59:** Benzylglycosidbildung aus **117 $\beta$**

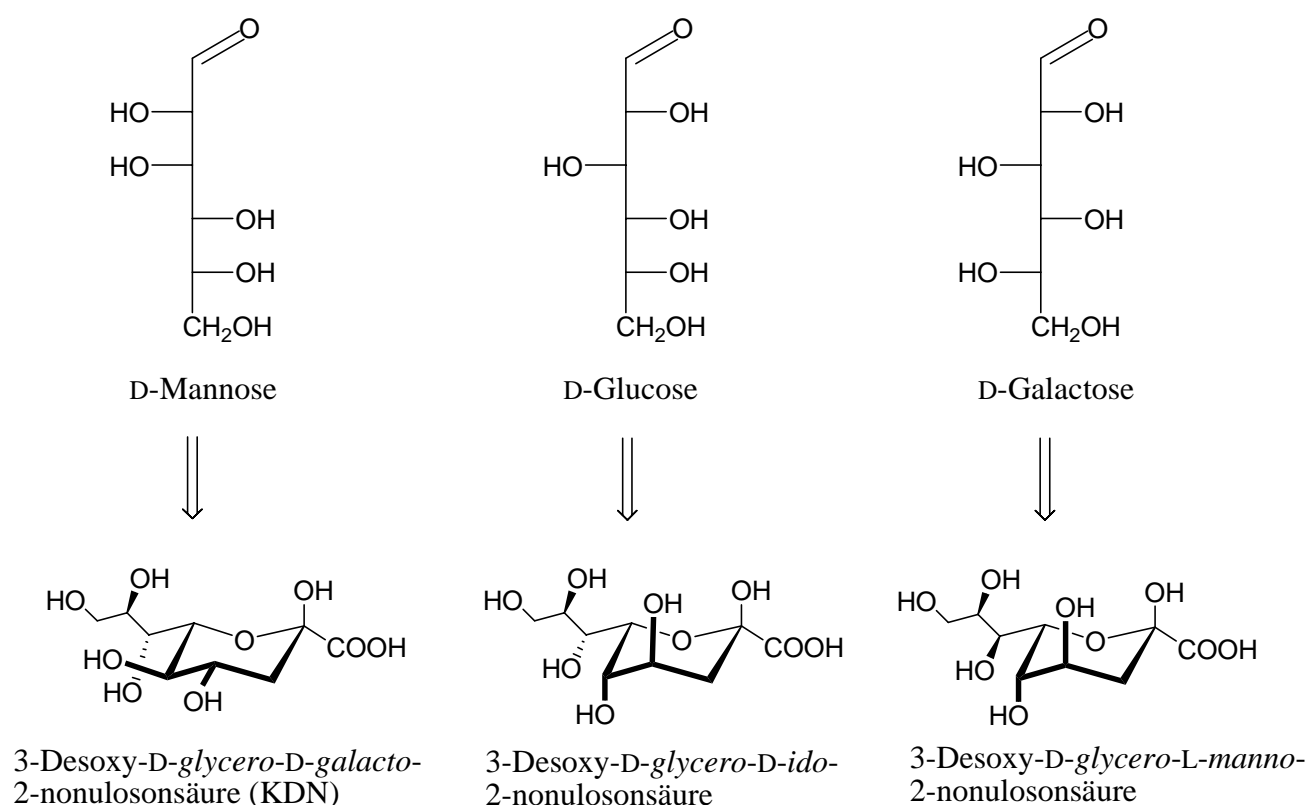
Obzwar die Methodik der Methyl- bzw. Benzylglycosidierung allgemein auf die oben beschriebenen Synthesen übertragbar war, lieferten die Ergebnisse nicht den gewünschten Erfolg. Die entsprechenden Methylglycoside bildeten sich zwar rasch, jedoch wurde neben den pyranoiden und furanoiden Strukturen im Falle von **98/99** auch eine intramolekulare 1,6-Anhydro-Glycosidbildung beobachtet. Versuche, einzelne Komponente in reiner Form durch präparative Chromatographie zu erhalten, scheiterten. Wenig Abhilfe verschaffte der Umstieg zur Benzylglycosidierung. Zum einen war die schlechte Löslichkeit der ungeschützten Edukte bei Raumtemperatur in BnOH ein Problem, zum anderem führte eine Temperaturerhöhung zur bereits erwähnten intramolekularen Nebenreaktion. Die Verwendung der anomergeschützten Peracetate als Edukte für die Benzylglycosid-Synthese erwies sich zwar vorteilhaft, jedoch konnten aufgrund des fehlenden Nachbargruppen-Effekts keine anomerereinen Produkte erhalten werden. Präparative chromatographische Trennversuche der einzelnen Komponenten scheiterten ebenso.



### 3.3 Chemische Synthese von KDN-Derivaten

#### 3.3.1 Synthese von KDN-Derivaten aus Monosacchariden

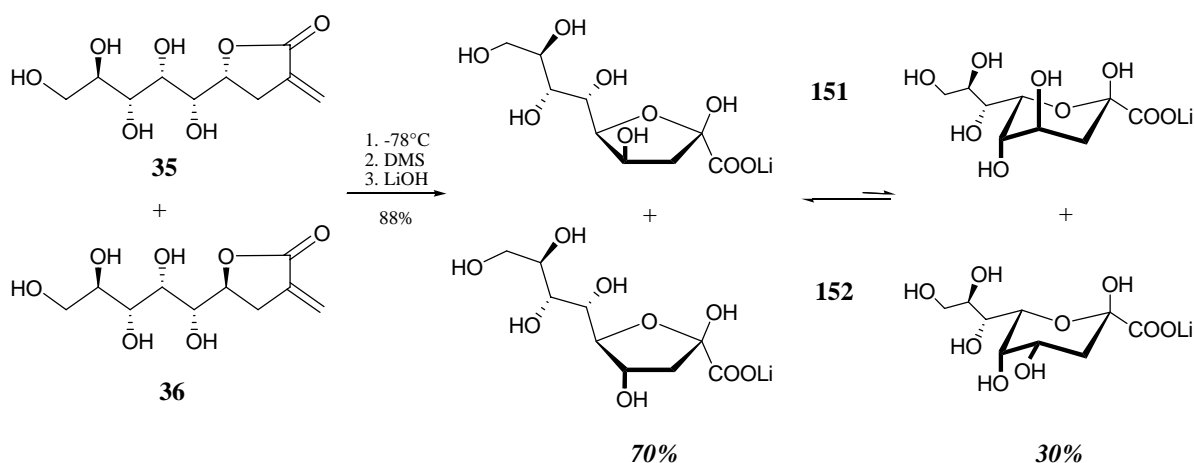
Auf der Grundlage der bereits bekannten Indium-vermittelten Allylierung von D-Mannose und den anschließenden durchgeführten Umsetzungen von D-Glucose bzw. D-Galactose sollten nun die erhaltenen Acrylat-Addukte (**Tabelle 7**) für die weitere chemische Synthese von KDN und *epi*-KDN-Derivaten eingesetzt werden. Im Hinblick auf die Verwendung von Disacchariden mit *gluco*-Konfiguration am reduzierenden Ende sollte zuerst ausgehend von den beiden Monosacchariden die Struktur der sich bildenden Sialinsäureanaloge untersucht und charakterisiert werden. Die Synthese der zu KDN analogen *epi*-KDN-Derivaten kann aus den entsprechenden Aldosen D-Glucose und D-Galactose erfolgen. Die Bildung des jeweils erwarteten Hauptdiastereomeren ist in **Abb. 60** angezeigt.



**Abb. 60:** Synthese von KDN und Analoga

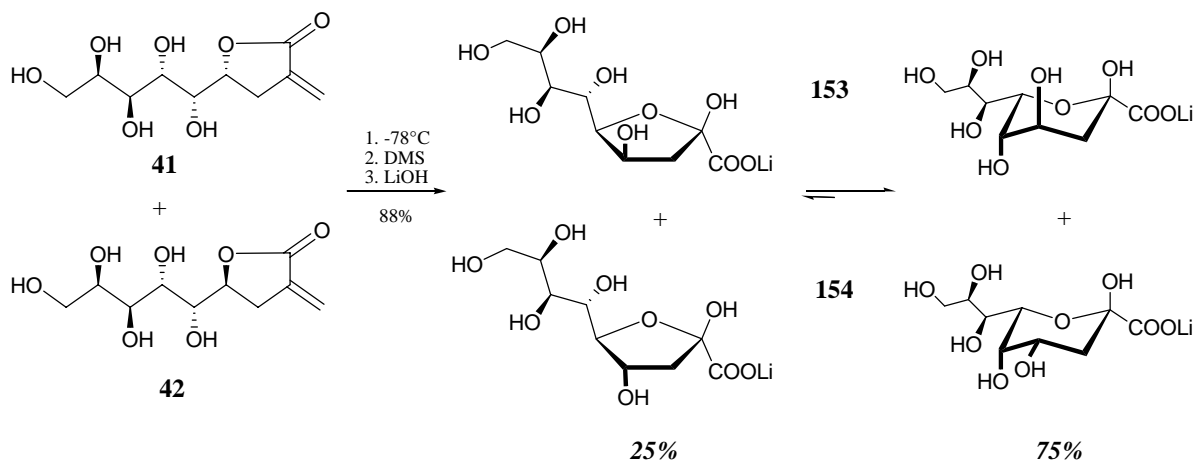
Ozonolyse der aus D-Glucose in Form eines Diastereomerengemischs erhaltenen  $\gamma$ -Lactone **35/36** mit anschließender reduktiver Aufarbeitung und Hydrolyse des erhaltenen Keto-Enols

lieferten das erwartete Produktgemisch **151**(*threo*)/**152**(*erythro*) im Verhältnis 6:1. Die NMR-spektroskopische Analyse legt jedoch nahe, dass es sich hierbei um ein Gleichgewicht des Diastereomerenpaars zwischen der furanoiden und pyranoiden Form mit einem Verhältnis von 70:30 zu Gunsten der furanoiden Struktur handelt. Eine plausible Erklärung dieses Sachverhaltes liegt in der axialen Anordnung der beiden OH-Gruppen in den Positionen 4 und 5 des Hauptisomers **151**. Die Ausbildung der furanoiden Form scheint stereochemisch günstiger zu sein und liefert somit das stabilere Produkt.



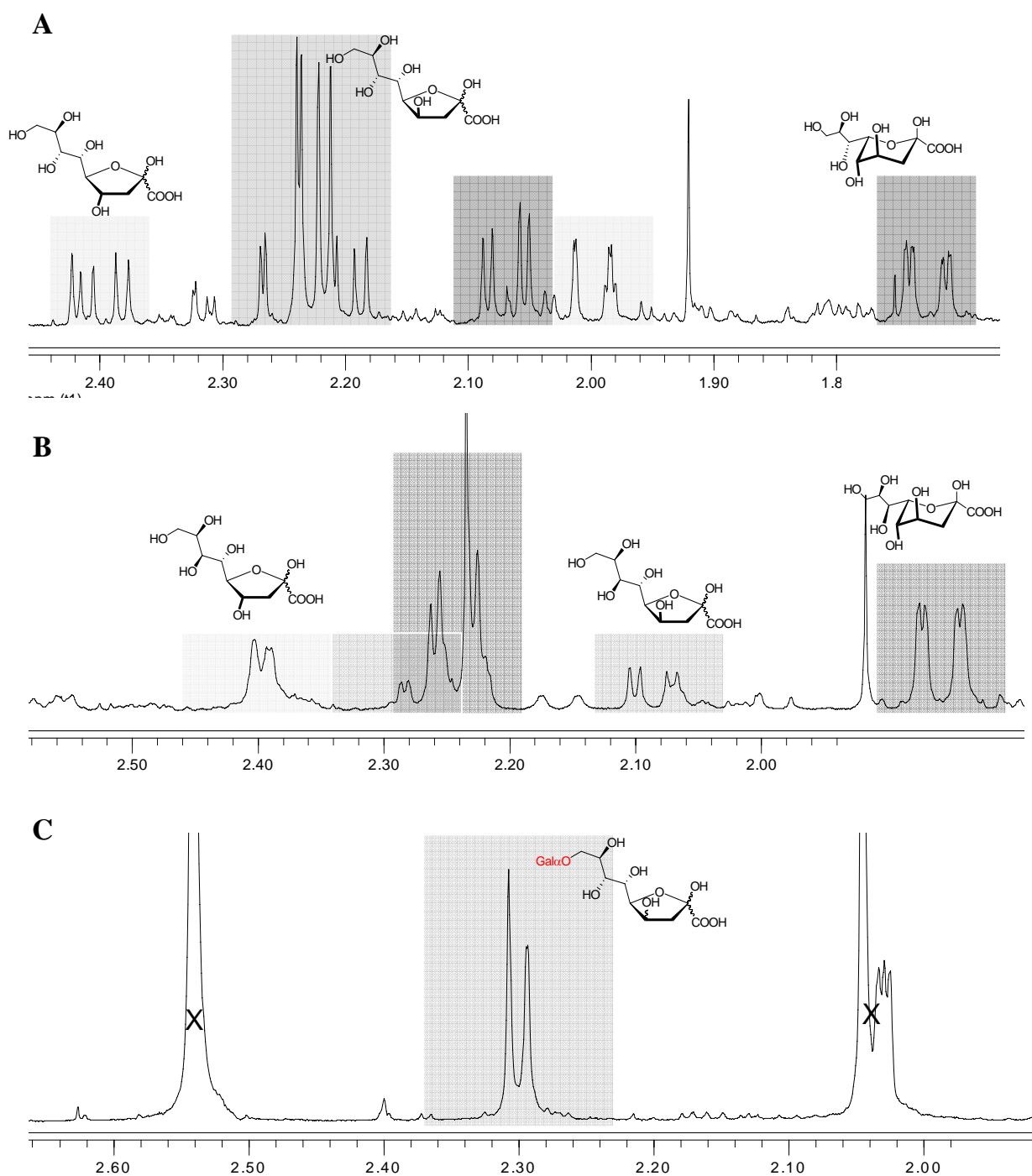
**Abb. 61:** Synthese von KDN-Analoga, ausgehend von D-Glucose

Setzte man dagegen die aus D-Galactose erhaltenen Lactone **41/42** analog um, so erhielt man das entsprechende Diastereomerenprodukt **153**(*threo*)/**154**(*erythro*) 6:1. Interessanterweise zeigten NMR-Untersuchungen, dass das Isomerenpaar zu 75% in der pyranoiden Form vorliegt (**Abb. 62**):



**Abb. 62:** Synthese von KDN-Analoga ausgehend von D-Galactose

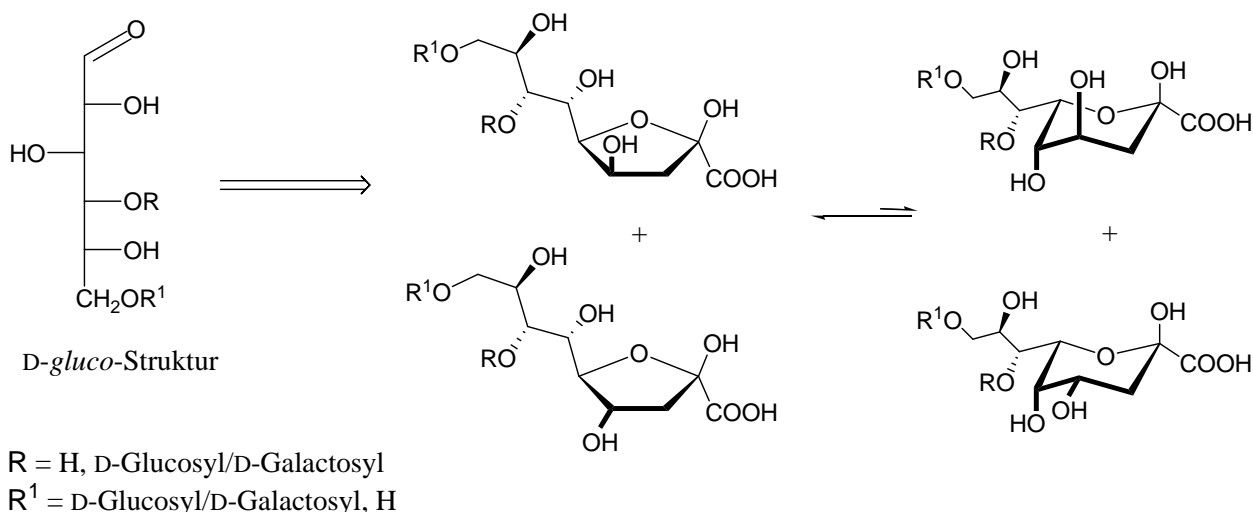
Dies kann vor allem an der Umkehrung der Konfiguration am C-7 liegen. Hierbei ändert sich die absolute Konfiguration der OH-Gruppe von *R* (**151/152**) nach *S* (**153/154**) (D-Galactose ist das 4-Epimere von D-Glucose). Dieser stereochemische Effekt dirigiert bevorzugt das entstandene epi-KDN-Derivat trotz axialer Anordnung der OH-Gruppen an Position 4 und 5 in die pyranoid Form.



**Abb. 63:** Ausschnitt aus den  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren A-C. A: **151/152**; B: **153/154**; C: **155/156**

### 3.3.2 Synthese von KDN-Derivaten aus Disacchariden

Mit der erfolgreichen Umwandlung von Disacchariden zu den entsprechenden kettenverlängerten Lactonen bzw. Estern und den Vergleichsspektren charakterisierten von parallel aus D-Glucose und D-Galactose erzeugten *epi*-KDN-Derivaten waren die Voraussetzungen erfüllt, die Zugänglichkeit von zuckersubstituierten KDN-Derivaten aus kommerziell erhältlichen Disacchariden abklären zu können. Hierbei konnten die Erkenntnisse aus den zuvor diskutierten NMR-Daten zur Zusammensetzung von Gleichgewichtsgemischen in wässriger Lösung zur Analyse der neu gebildeten Verbindungen herangezogen werden. Zu erwarten waren die 7- bzw. 9-zuckersubstituierten diastereomeren Produktgemische (**Abb. 64**):

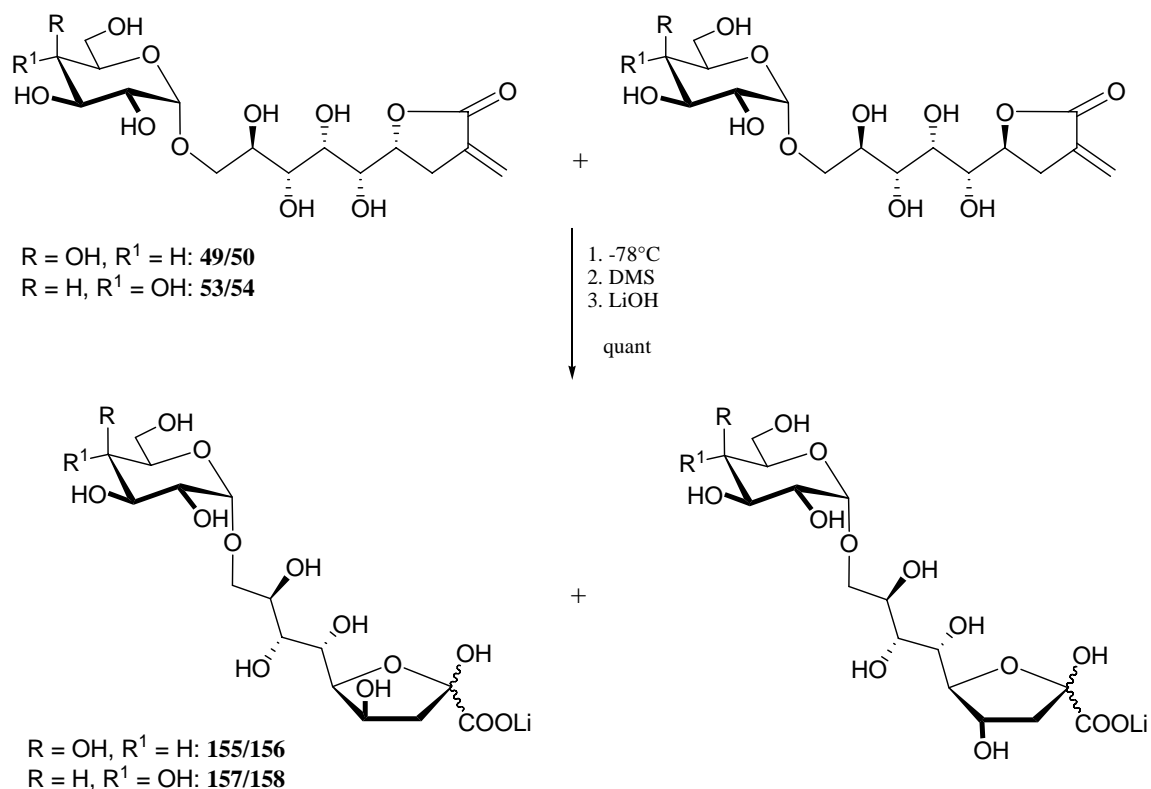


**Abb. 64:** Synthese von KDN-Analoga aus Disacchariden

Die Ozonolyse der Ester/Lacton-Gemische wurde nach Standardbedingungen vorgenommen. Wie Anfangsuntersuchungen anhand der aus Maltose synthetisierten Lactone **43/44** zeigten, erfolgte die Hydrolyse der erhaltenen Ozonolysegemische langsamer als bei den zuvor untersuchten Monosacchariden. Die Ozonolysegemische wurden hierzu in einem MeOH/Wasser-Gemisch 2:1 mit 0.5 M LiOH auf pH 9.0 eingestellt und mehrere Tage lang gerührt, da DC-Kontrollen zuvor kein einheitliches Produkt nachwiesen. Auch war es zur völligen Hydrolyse nötig, den pH-Wert bei Bedarf auf pH 9.0 nachjustieren. Versuche während der Hydrolyse, die nicht vollständig umgesetzten Ozonolyseprodukte von den gewünschten salzartigen Produkten mittels Ionentauscher abzutrennen, scheiterten. Eine

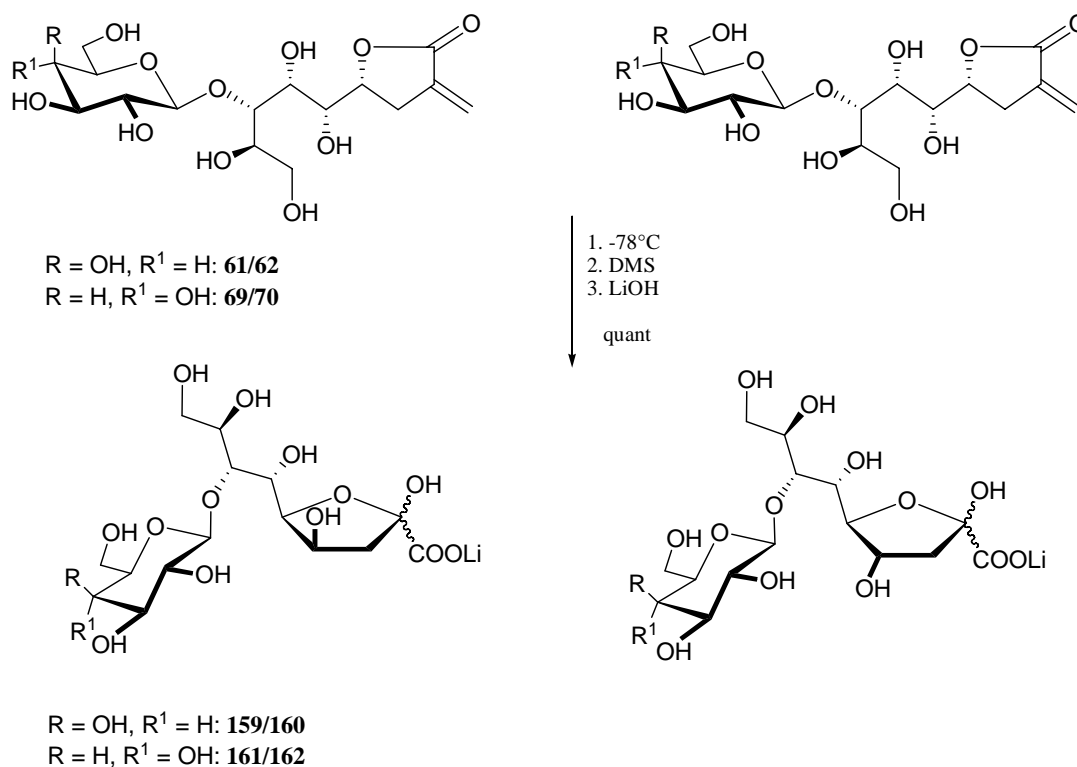
spektroskopische Charakterisierung war aufgrund der Komplexität der Gemisch-Spektren nicht möglich.

Die Ozonolyse und Hydrolyse der aus D-Melibiose und D-Isomaltose erhaltenen Ester/Lactongemische **47-50** bzw. **51-54** verlief nach oben beschriebener Methode problemlos. Allerdings lagen die gebildeten Produkte anscheinend ausschließlich in der furanoiden Form vor (**Abb. 65**):



**Abb. 65:** Synthese von 9-glycosylierten KDN-Analoga

Ozonolyse und anschließende Hydrolyse der aus D-Lactose und D-Cellobiose erhaltenen Ester/Lactongemische **59-62** bzw. **69/70** lieferten die entsprechenden 7-substituierten *epi*-KDN-Derivate (**Abb. 66**):



**Abb. 66:** Synthese von 7-glycosylierten KDN-Analoga

Die ursprünglich für ManNAc, Mannose und *manno*-konfigurierte Zucker entwickelte Reaktionssequenz von Allylierung, Ozonolyse und Hydrolyse zur chemischen Synthese von Neu5Ac, KDN bzw. KDN-Analoga konnte hiermit erstmals erfolgreich auch auf Disaccharide mit *gluco*-Konfiguration am reduzierenden Ende übertragen werden. Allerdings konnten mit dieser Methodik entgegen der Erwartung keine epimerenreine Produkte erhalten werden. Der erste Schritt, die Addition des Acrylat **30** an Kohlenhydrate, lieferte zwar in guten Ausbeuten das *threo*-Produkt im Überschuss von 5:1 bis 7:1. Eine vollständige Unterdrückung des *erythro*-Diastereomeren nach der Methode von Warwel ließ sich aber nicht erreichen, so dass das entsprechende Verhältnis stereoisomerer Komponenten auch im Endprodukt wieder gefunden wird. Hervorzuheben ist jedoch die kurze Reaktionssequenz, der völlige Verzicht auf Schutzgruppenmanipulationen und der Erhalt der stereochemischen Information. Auch in saurem Milieu konnte unter optimierten Bedingungen die Hydrolyse des Disaccharids praktisch vollständig vermieden werden. Somit wurden erstmals nach wertvolle zuckersubstituierte KDN-Analoga in guten Ausbeuten zugänglich.

## 3.4 Enzymatischer Teil

### 3.4.1 Einleitung

Sialinsäuren sind die bei Säugern am häufigsten vorkommenden terminalen Komponenten von Oligosacchariden, Glycoproteinen und -lipiden, wo sie an vielfältigen biologischen Prozessen beteiligt sind <sup>[51,231-233]</sup>. Aufgrund ihrer exponierten Stellung auf der Zelloberfläche wird bei einer großen Anzahl von Viren (z. B. Influenzavirus, Reovirus, Polyomavirus) und Bakterien (z. B. *Neisseria meningitidis*, *E. coli* K1, *Haemophilus ducreyi*) die Bindung und Infektion des pathogenen Erregers über Sialinsäuren gesteuert <sup>[234-240]</sup>. *N*-Acetylneuraminsäure ist die meistverbreitete Sialinsäure in Eukaryonten und wird *in vivo* aus der Vorstufe *N*-Acetylmannosamin synthetisiert. Durch die vor allem von Bertozzi und Reutter angewandte Methode des *metabolic oligosaccharide engineering* konnte gezeigt werden, dass neben dem natürlichen Vorläufer auch modifizierte D-Mannosaminderivate von Zellen aufgenommen und über den Biosyntheseweg des natürlichen Substrats *in vitro* als auch *in vivo* effizient in *N*-modifizierte sialinsäurehaltige Zelloberflächen metabolisiert werden <sup>[112,241-246]</sup>. In Abhängigkeit vom Zelltyp können dadurch 10-85% der natürlichen Sialinsäuren an Zelloberflächen von Sialoglycokonjugaten durch modifizierte Sialinsäuren ausgetauscht werden.

Der Zugang zu solchen modifizierten Zelloberflächen in verschiedenen biologischen Systemen liefert wichtige und teils unerwartete Eigenschaften z. B. bezüglich der Wechselwirkung von Viren mit den sialylierten Rezeptoren von Gastzellen. So bewirkt die Zugabe von ManNProp, welche in Vergleich zum natürlichen Vorgänger ManNAc um eine Methylengruppe in der Seitenkette verlängert ist, die Proliferation von Astrozyten, Microglia und peripheren T-Lymphozyten. Ein anderes Anwendungsfeld für Neu5Ac-Derivate wird zum Einschleusen rekombinanter DNA in tierische Zellen durch Viren erforscht. Die Abwesenheit von viralen Rezeptoren ist bei vielen Zellen eine große Hürde für den Gentransfer durch virale Infektion, wie er in der roten Gentechnik verfolgt wird. Durch den Ersatz von Neu5Ac durch NeuNLev (*N*-Levulinylneuraminsäure) auf den Zelloberflächen wird eine Ketofunktion eingebaut, die durch kovalente Anbindung von Biotinhydrazin einen künstlichen Rezeptor für Adenoviren schafft. So wird die Infektion resistenter Zellen möglich <sup>[254]</sup>.

Interessanterweise konnten bei der Verstoffwechselung der am Stickstoff nicht unwesentlich modifizierten Derivate weder Anzeichen für Toxizität noch eine wesentliche Verringerung

der Zellproliferation beobachtet werden. Das impliziert, dass die Akzeptanz der am Sialinsäuremetabolismus beteiligten Enzyme gegenüber am Stickstoff modifizierten Derivaten sehr hoch ist. Gerade die C-5-Position der Sialinsäure scheint jedoch neben der Carboxyfunktion die kritische Determinante bei Sialinsäure-abhängigen Wechselwirkungen zu sein. So ist vom natürlich vorkommenden KDN, dem deaminierten Neuraminsäure-Derivat, bekannt, dass es im Gegensatz zu aminierten Derivaten nicht von viralen und bakteriellen Sialidasen als Substrat erkannt wird<sup>[248]</sup>. Somit ist bei Infektionsprozessen, in denen die Enzym-katalysierte Hydrolyse der Sialinsäureeinheiten zu den Schlüsselschritten zählt, kein infektiöser Angriffspunkt vorhanden.

Durch solche *in vivo*-Beobachtungen wird die ohnehin schon große Nachfrage nach modifizierten Sialinsäurestrukturen und entsprechenden Konjugaten zusätzlich verstärkt, da man stark daran interessiert ist, unter *in vitro*-Bedingungen den Einfluß struktureller Veränderungen gezielt untersuchen zu können, um auf diese Weise die vielfältigen und komplexen Struktur-Funktionsbeziehungen von Sialinsäure-Konjugaten zu erfahren.

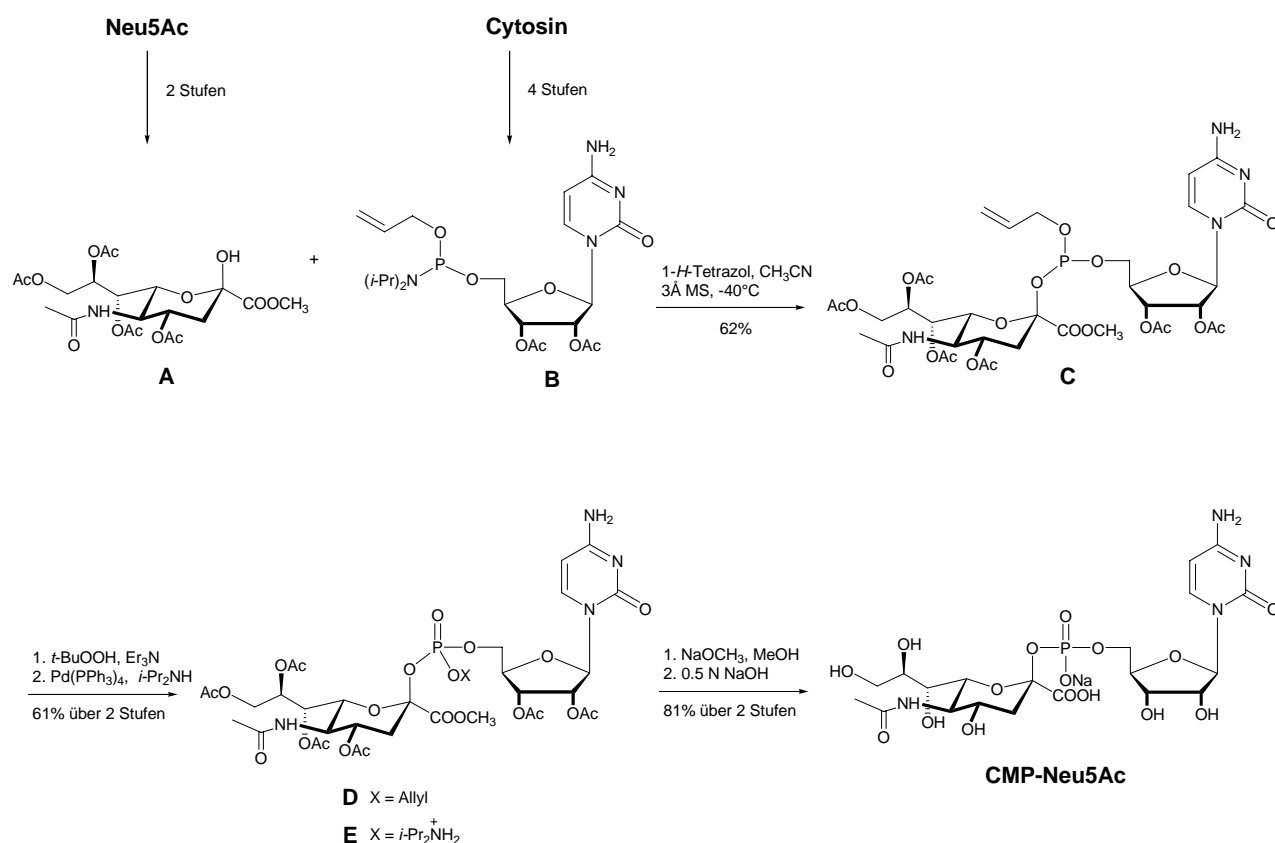
Die Anknüpfung der chemisch bzw. enzymatisch synthetisierten Sialinsäure an entsprechende Akzeptorsubstrate erfolgt unter Verwendung von Sialyltransferasen. Diese sind zum Teil kommerziell erhältlich, jedoch für den präparativen Maßstab sehr kostspielig. Transferase-katalysierte Sialylierungen sind im Gegensatz zur chemischen Glycosylierung von Vorteil, da hier auf umständliche Schutzgruppenmanipulationen, stereokontrollierende Auxiliare und längere Synthesesequenzen mit unbefriedigenden Ausbeuten verzichtet werden kann. Zusätzlich zeigen Sialyltransferasen auch eine gewisse Substrattoleranz gegenüber Akzeptormodifikationen. Weniger ist bekannt über ihre Donorspezifität, da die Synthese von entsprechenden CMP-Neu5-Analoga schwierig ist.

Unabhängig von der Art und Spezifität der Sialyltransferase bedarf es zuvor der Aktivierung des Sialinsäurederivats, da nur CMP-aktivierte Derivate für einen enzymatischen Sialyltransfer in Frage kommen. Obwohl Fortschritte in der Molekularbiologie dazu führten, daß durch Rekombinationstechniken mittlerweile zahlreiche Sialinsäure-Analoga mittels der CMP-Sialat-Synthase in entsprechend aktivierte CMP-Konjugate überführt werden konnten, bedarf es weiterer Untersuchungen, um vor allem die Substratspezifität der jeweiligen Sialat-Synthasen auf ihre breite Anwendbarkeit untersuchen und aufzuklären zu können.

Einige Publikationen der letzten Jahre berichten auch über die chemische Synthese von CMP-Sialinsäure-Analoga<sup>[79,91,248-265]</sup>. So gelang es *Halcomb* und *Chapell* eine Methode zu entwickeln, die es neben dem natürlichen Vertreter CMP-Neu5Ac erlaubt, auch andere



Konjugate herzustellen<sup>[255]</sup>. In einer Kondensation der geschützten Neuraminsäure **A** mit dem Phosphoramidit **B** wird in 62% Ausbeute das Phosphit **C** erhalten. Oxidation des Phosphits zum Phosphotriester **D** mit anschließender Deallylierung zum Phosphat **E** verläuft in 61% Ausbeute. Abschließende *O*-Deacetylierung mit Methoxid und Esterverseifung mit NaOH ergibt das gewünschte CMP-Neu5Ac. Auf diese Weise gelang es auch mehrere Derivate zu synthetisieren wie CMP-Neu5Gc, CMP-Neu5Cbz, CMP-KDN. Angesichts der hohen Anzahl der Stufen (allein 5 Stufen für die eigentliche Kopplung, 4 weitere Stufen für die Bereitstellung des Phosphoramidits aus Cytosin und 2 weitere Stufen für die Schützung von Neu5Ac) sowie der unproduktiven, aber aufwendigen und kostspieligen Schutzgruppenmanipulation stellt die chemische Synthese keine echte Alternative zum enzymatischen Verfahren dar. Einer Arbeitsgruppe um *Kajihara* gelang es darüber hinaus CMP-Neu5Ac-Derivate über eine Anbindung der Neuraminsäure über deren C-9-Position an der Festphase zu synthetisieren<sup>[256]</sup>.



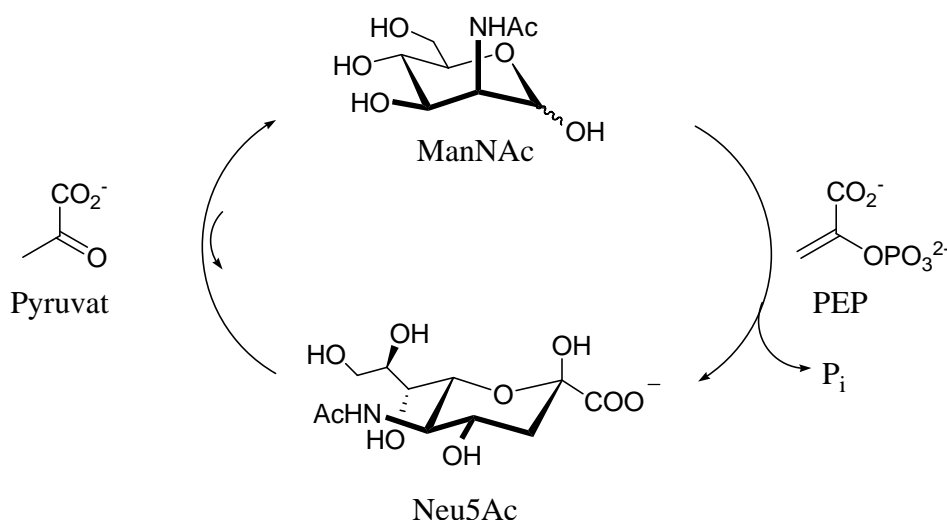
**Abb. 67:** Chemische Synthese von CMP-Neu5Ac nach *Halcomb* und *Chapell*<sup>[79,254,255]</sup>

Mit der von Frau Dr. Knorst im Arbeitskreis erfolgreich rekombinant exprimierten CMP-Sialat-Synthetase aus *Neisseria meningitidis* gelang es bereits, einige bisher chemisch nicht

zugängliche CMP-Konjugate auch im präparativen Maßstab bereitzustellen. Ziel dieser Arbeit war es unter anderem auch, weitere Sialinsäuren als Akzeptorsubstrate der CMP-Sialat-Synthetase zu testen und im 100-mg Maßstab für weitere präparative Zwecke bereitzustellen.

### 3.4.2 Literaturübersicht zur Substrattoleranz von *N*-Acetylneuraminsäure-Aldolasen und – Lyasen

Die enzymatische Synthese von Neu5Ac lässt sich prinzipiell über zwei Syntheserouten realisieren, nämlich durch Einsatz von Neu5Ac-Aldolase (NeuA) oder der Neu5Ac-Synthase (NeuS). Im Gegensatz zur häufig genutzten Umsetzung von ManNAc und Pyruvat mit der kommerziell erhältlichen Aldolase (NeuA) liegt das Gleichgewicht bei der durch Phosphoenolpyruvat (PEP)-abhängigen Lyase (NeuS) katalysierten Reaktion auf der Seite der Produkte. Wegen dieser im Vergleich zur einfachen Aldoladdition thermodynamisch und kinetisch begünstigten Reaktion ist man an der Gewinnung der Neu5Ac-Lyase hoch interessiert. Hierbei gelang es Frau Dr. Knorst ebenfalls, die Neu5Ac-Lyase aus einem neu konstruierten, rekombinanten *E. coli*-Stamm in größeren Mengen für präparative Zwecke zu gewinnen. Der Zugang zu größeren Mengen dieses Enzyms verspricht eindeutige Vorteile bei der Synthese von *N*-Acetylneuraminsäure und deren Analoga, da die Abtrennung der Sialinsäure von nicht umgesetzten Edukten weitaus weniger schwierig sein sollte als bei der Verwendung der Aldolase, die einen 7-10fachen großen Überschuss an Pyruvat benötigt.



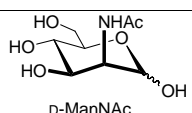
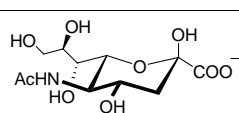
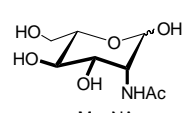
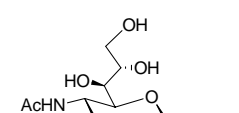
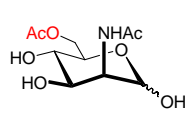
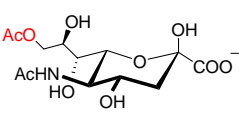
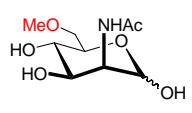
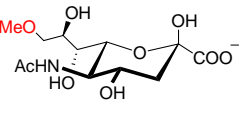
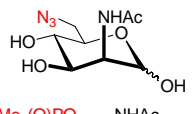
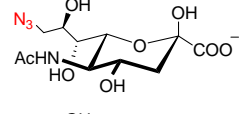
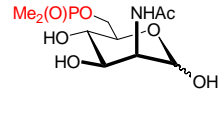
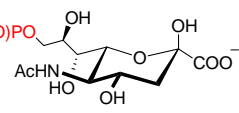
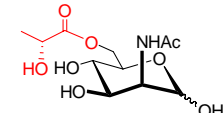
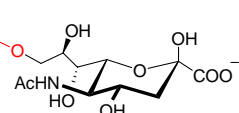
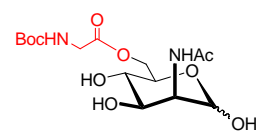
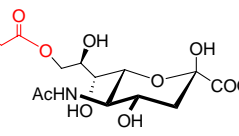
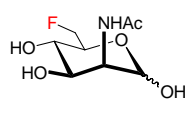
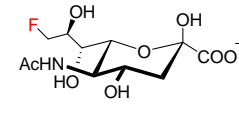
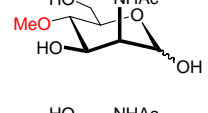
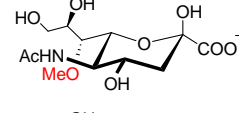
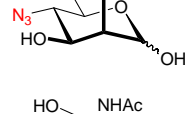
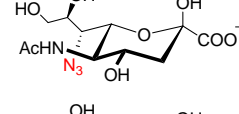
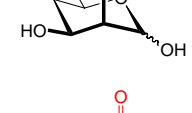
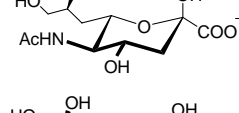
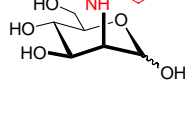
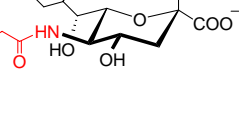
**Abb. 68:** Enzymatische Synthesen von *N*-Acetylneuraminsäuren

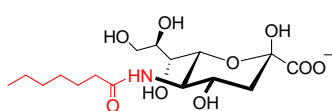
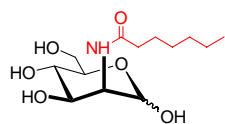
Es war jedoch zu befürchten, dass die Lyase als ein *in vivo* ausschließlich anaboles Enzym für die Synthese von Neu5Ac nicht in allen Fällen eine ähnlich breite Substrattoleranz wie die dem Katabolismus zugehörige Aldolase erreichen kann<sup>[7,102]</sup>. In der Biosynthese wird im Gegensatz zu der üblich durchgeführten labortechnischen Kondensation der entsprechenden Mannosamin-Derivate mit PEP die Modifikation am Sialinsäurerüst tatsächlich erst nachträglich aufgebaut.

Die Neu5Ac-Aldolase konnte bereits aus Bakterien und auch höheren Tieren isoliert werden, wobei Enzympräparationen aus *Clostridium perfringens* und *E. coli* auch kommerziell erhältlich sind. Mittlerweile sind zur Substratspezifität der Aldolase umfangreiche Untersuchungen durchgeführt worden. Als Donor wird jedoch nur Pyruvat akzeptiert. Acetylphosphonat, 3-Brompyruvat, 3-Hydroxypyruvat oder 2-Oxobutyrat sind keine Substrate<sup>[108]</sup>. Hinsichtlich der Akzeptorbausteine ist das Enzym wesentlich flexibler. So können die Positionen an C-2, C-4 und C-6 von ManNAc bzw. Mannose abweichend substituiert sein. Auch einige Pentosen und ihre Analoga konnten umgesetzt werden, lediglich C<sub>2</sub>- und C<sub>3</sub>-Aldehyde werden nicht akzeptiert (**Tabelle 15**).

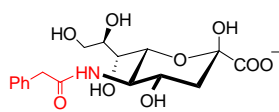
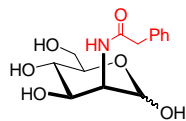
Die aus der Umsetzung mit der Neu5Ac-Aldolase erhaltenen Produkte besitzen überwiegend die *S*-Konfiguration an C-4. Jedoch wurde in einigen Fällen auch die Bildung der umgekehrten Konfiguration beobachtet wie z.B. bei der Synthese von KDO aus D-Arabinose, wobei wo ein Gemisch der C-4-Epimeren entsteht. Auch wenn es der eigentlichen stereochemischen Präferenz des Enzyms widerspricht, wurde bei längeren Reaktionszeiten einiger Zucker wie L-Mannose oder L-ManNAc die Bildung von Produkten mit einer äquatorialen Gruppe an C-4 beobachtet<sup>[110]</sup>. Man kann diesen Sachverhalt durch ein 3-Punkt-Bindungsmodell erklären, nach dem sich der nicht typische *re*-Seiten-Angriff durch die Konfiguration an C-3 und die anomere Konfiguration am aldehydischen Substrat ableiten lässt<sup>[102]</sup>. Somit lassen sich mit der Neu5Ac-Aldolase auch biologisch interessante unnatürlich konfigurierte L-Sialinsäuren herstellen wie L-Neu5Ac, L-KDN oder L-KDO.

**Tabelle 15:** Substrattoleranz der *N*-Acetylneuraminsäure-Aldolase (NeuA)

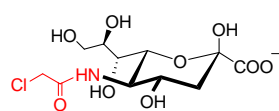
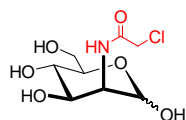
Donor	Sialinsäure	Ausbeute (%)	Literatur
 D-ManNAc		85	[108,257-260]
 L-ManNAc		k.A.	[110]
		84	[108,258]
		59	[258]
		84	[109]
		42	[109]
		53, 72	[109,148]
		47	[260]
		22	[109]
		70	[258,261]
		46	[262]
		70	[261,273]
		38	[240]



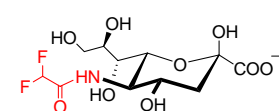
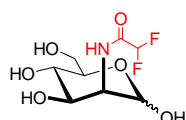
5 [240]



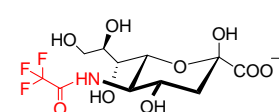
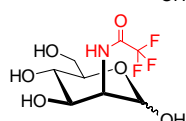
11 [240]



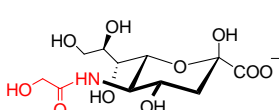
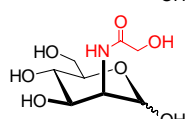
10 [240]



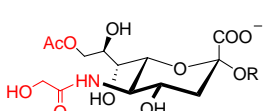
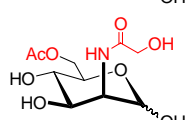
39 [240]



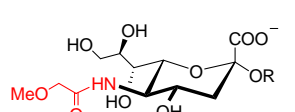
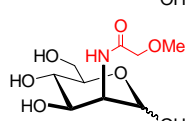
43 [240]



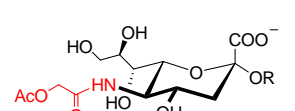
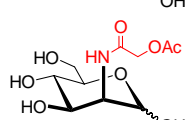
61 [258]



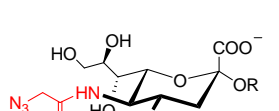
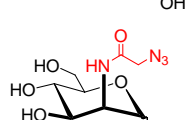
78 [148]



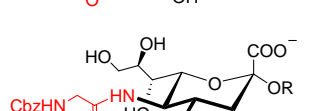
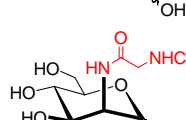
90-99 [147,148]



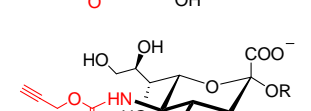
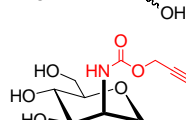
87 [148]



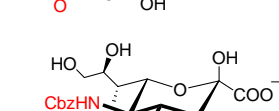
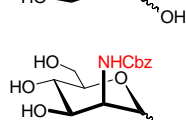
82-90 [147]



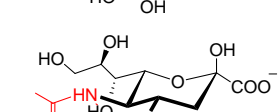
99 [148]



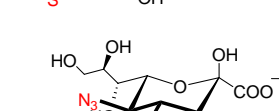
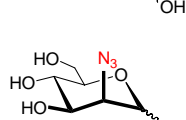
65 [148]



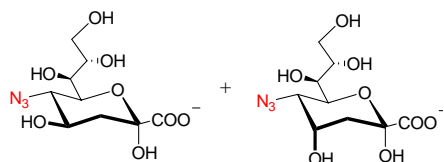
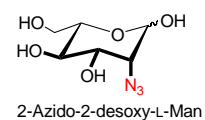
75 [264,265]



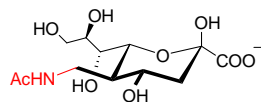
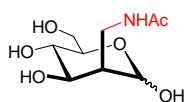
56 [266]



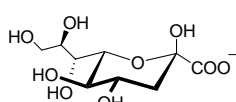
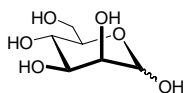
80 [264,267,268]



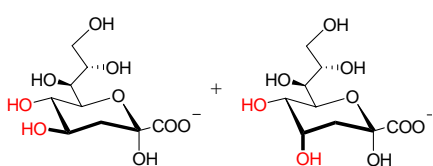
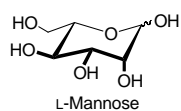
k.A. [110]



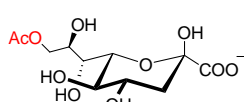
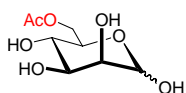
75 [268]



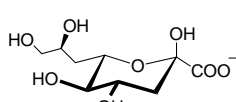
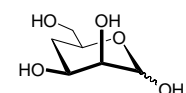
84 [110,263]



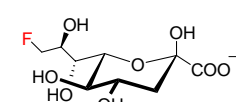
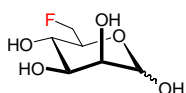
k.A. [110]



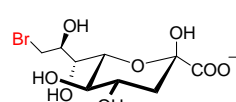
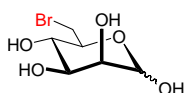
75 [148]



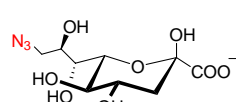
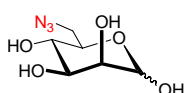
67 [263]



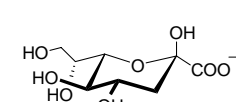
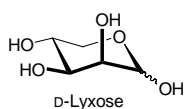
40 [109]



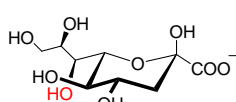
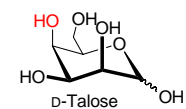
76 [270]



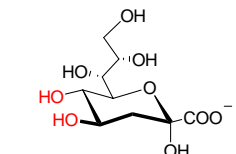
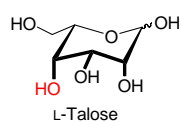
88 [147]



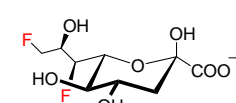
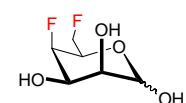
92, 66 [148,263]



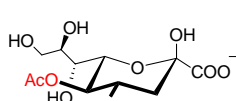
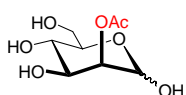
k.A. [110]



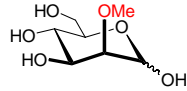
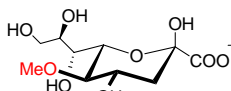
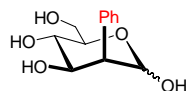
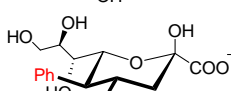
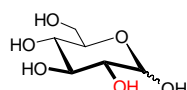
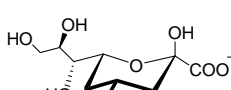
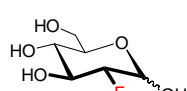
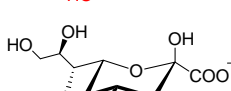
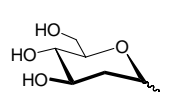
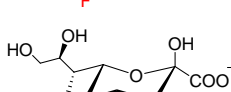
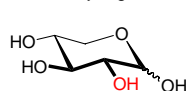
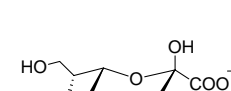

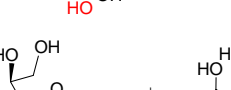
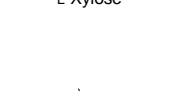
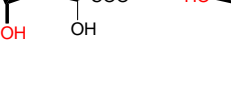
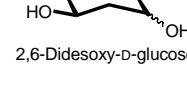
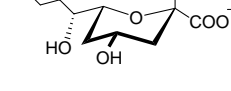
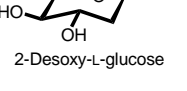
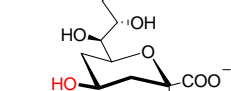


k.A. [110]

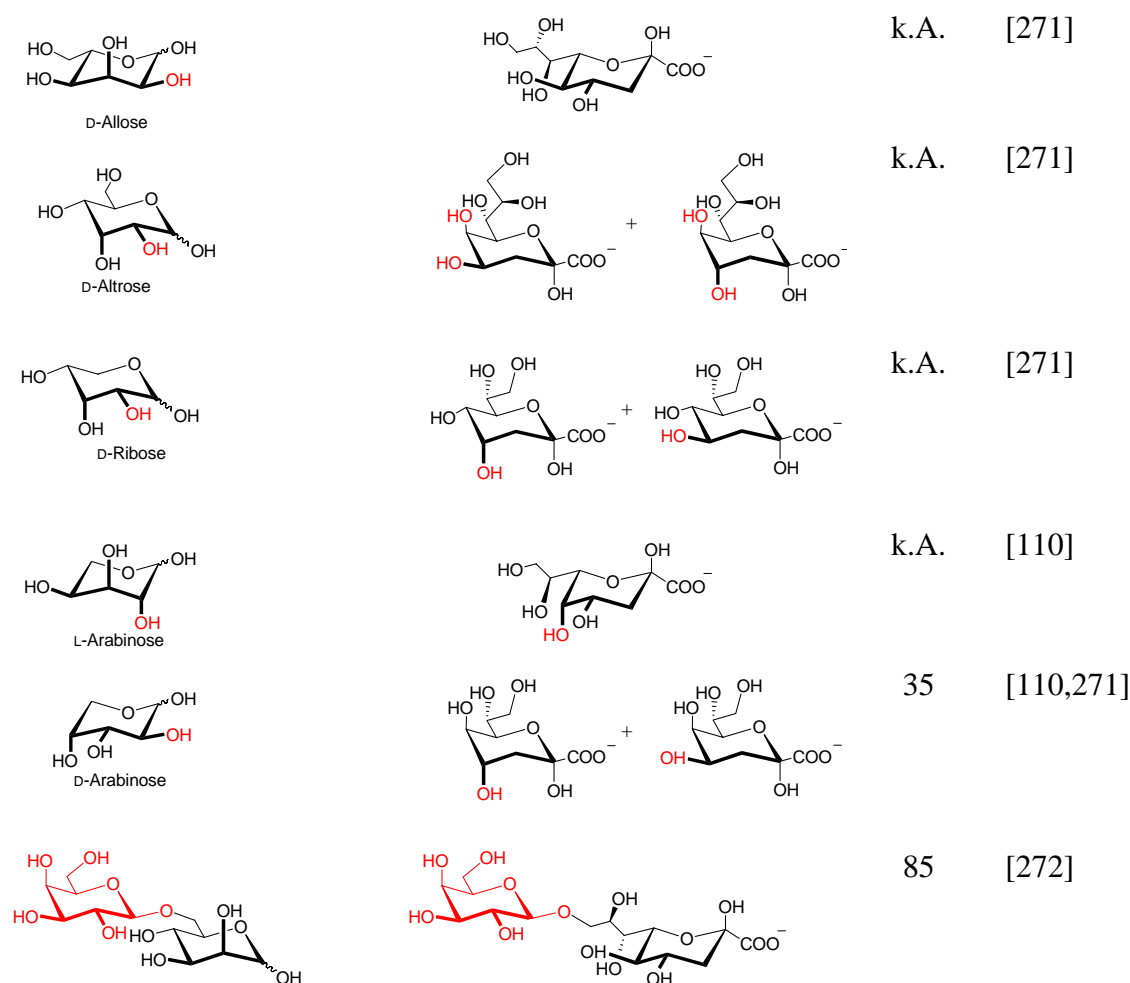


40 [110]

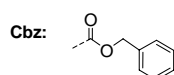
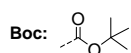


75 [148]

		76	[148]
		76	[263]
		28	[268]
D-Glucose		30	[109]
		36	[109,263]
2-Desoxy-D-glucose		18	[271]
		k.A.	[271]
D-Xylose		k.A.	[110]
		k.A.	[110]
L-Xylose		k.A.	[110]
			
2,6-Dideoxy-D-glucose			
			
2-Desoxy-L-glucose			
			
2,6-Dideoxy-L-glucose			
			
L-Gulose			
			
D-Gulose			



k. A.: keine Angabe

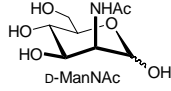
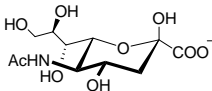
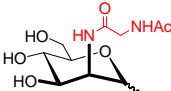
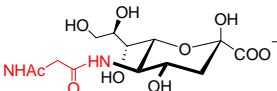
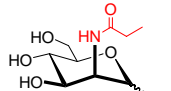
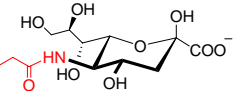

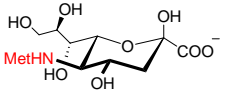
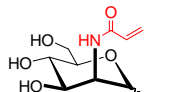
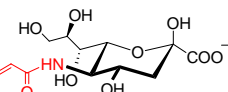
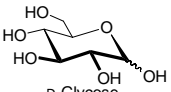
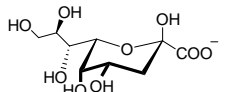
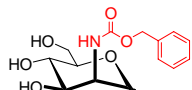
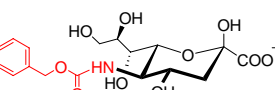
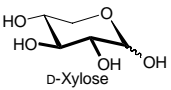
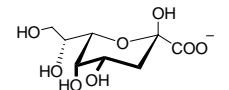
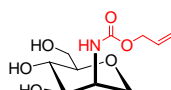
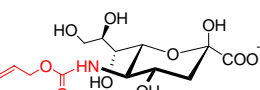
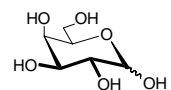
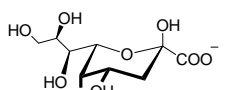
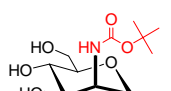
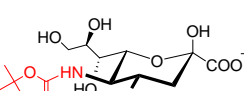
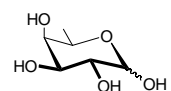
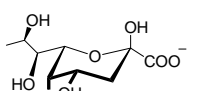
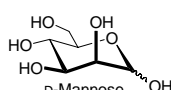
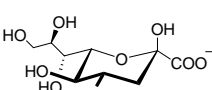
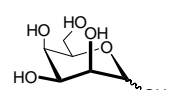
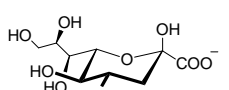
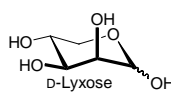
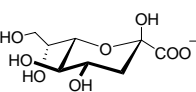
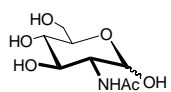
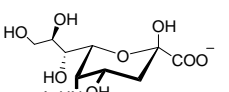
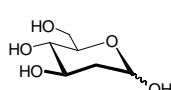
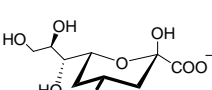
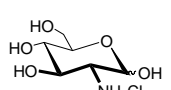
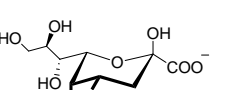
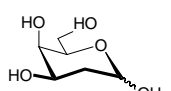
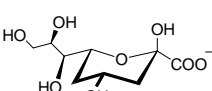
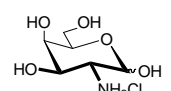
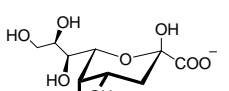
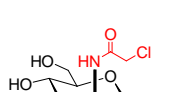
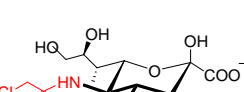
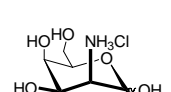
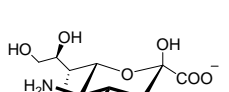
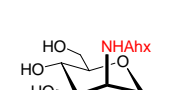
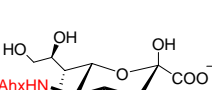
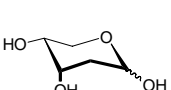
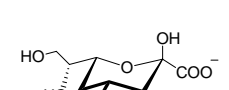


Die *N*-Acetylneuraminsäure-Lyase bzw. -Synthase (NeuS) konnte unter anderem in humanpathogenen Bakterien wie *E. coli* K1<sup>[273]</sup>, *Neisseria meningitidis*<sup>[104]</sup> oder *Campylobacter jejuni*<sup>[274]</sup> gefunden werden. Das *neuB*-Gen aus *E. coli*<sup>[275]</sup> konnte bereits kloniert und das rekombinante Protein aufgereinigt und charakterisiert werden. Durch die Studien von Knorst gelang es, mit Hilfe eines hoch effektiven Überexpressionssystems in *E. coli* die *N*-Acetylneuraminsäure-Lyase aus *Neisseria meningitidis* Serogruppe B in großem Maßstab zur Verfügung zu stellen<sup>[111]</sup>.

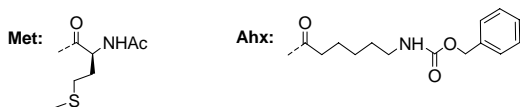
Bezüglich der Substratspezifität zeigte das neue Enzym eine breite Toleranz, wobei neben dem natürlichen Substrat ManNAc nicht nur weitere ManN-Derivate präparativ umsetzbar waren, sondern auch normale Zucker wie D-Mannose, D-Lyxose, 2-Desoxy-D-glucose oder 2-Desoxy-D-galactose (**Tabelle 16**).



**Tabelle 16:** Substrattoleranz der *N*-Acetylneuraminsäure-Synthase (NeuS)<sup>[111,118]</sup>.

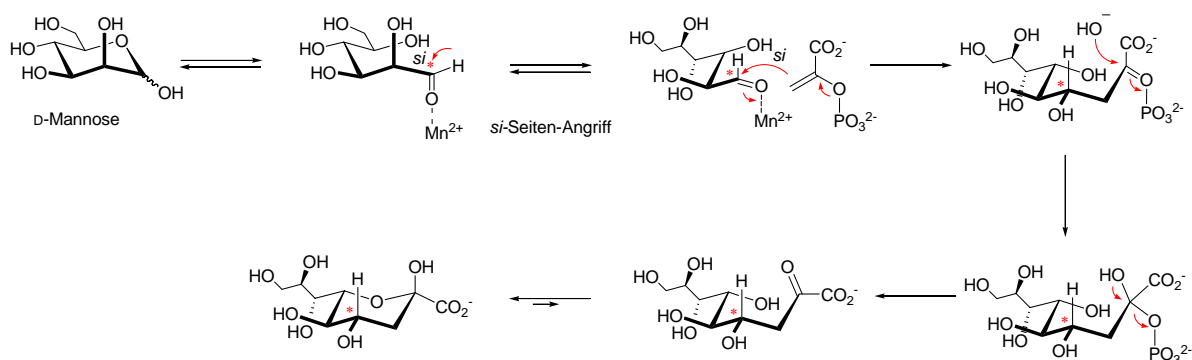
Donor	Sialinsäure	Ausbeute (%)	Donor	Sialinsäure	Ausbeute (%)
 d-ManNAc		89	 d-ManNGly		+
 d-ManNProp		70	 d-ManNMet		+
 d-ManNAcryl		78	 d-Glucose		+
 d-ManNCbz		64	 d-Xylose		+
 d-ManNAlloc		65	 d-Galactose		+
 d-ManNBoc		18	 d-Fucose		+
 d-Mannose		62	 d-Talose		+
 d-Lyxose		48	 d-GlcNAc		+/-
 2-Desoxy-D-glycose		64	 d-GlcNH <sub>2</sub> HCl		+/-
 2-Desoxy-D-galactose		46	 d-GalNH <sub>2</sub> HCl		+/-
 d-ManNAcCl		++	 d-ManNH <sub>2</sub> HCl		+/-
 d-ManNAhx		++	 2-Desoxy-D-ribose		+

++: nach 1 h vollständiger Umsatz    +: nach 1 h unvollständiger Umsatz (20-80%)    +/-: nach 1 h geringer, aber nachweisbarer Umsatz (5-20%)



Ähnliche Tendenzen lassen sich auch bei dem Enzym aus *Campylobacter jejuni* vermuten, für das gezeigt werden konnte, dass für Umsetzungen neben *N*-Acetylmannosamin auch *N*-Propionylmannosamin, *N*-Butanoylmannosamin und *N*-Pentanoylmannosamin geeignet sind<sup>[276]</sup>. Allerdings konnte bei allen bisher charakterisierten Enzymen nur PEP als C-3-Substratdonor eingesetzt werden. Entsprechende Analoga wie Lactat, 3-Brompyruvat, Oxalacetat, Phosphoglycolat oder Phosphoglycerat führten zu negativen Aktivitätsassays<sup>[104,275,277]</sup>.

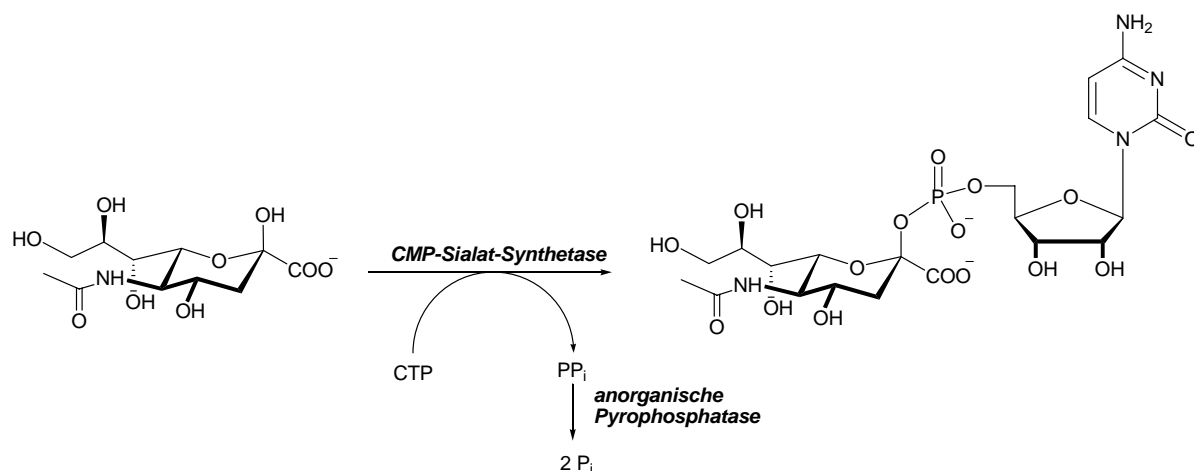
Wie die Ergebnisse aus **Tabelle 16** zeigen, weist die NeuS hinsichtlich der Akzeptorsubstrate ähnliche Flexibilität wie die NeuA auf. Die Positionen C-2, C-4, C-5 und C-6 können von dem natürlichen Substrat ManNAc abweichend substituiert sein. Lediglich die *manno*-Konfiguration an C-3 ist essentiell. Im Unterschied zur Aldolase wird auch *N*-Acetylglucosamin als Substrat akzeptiert, wenn auch mit deutlich geringeren Geschwindigkeit im Vergleich zu *N*-Acetylmannosamin. Anzeichen einer unzureichenden Stereospezifität, wie sie teilweise bei der NeuA beobachtet wurde, konnten bis jetzt nicht beobachtet werden.



**Abb. 69:** Vorgeschlagener Mechanismus des *si*-Seiten-Angriffs der NeuS<sup>[278]</sup>

### 3.4.3 Literaturübersicht zur Substrattoleranz der CMP-Sialat-Synthetase

Die enzymatische Aktivierung von Sialinsäuren wird von CMP-Sialat-Synthetasen (EC 2.7.7.43) unter Verbrauch von CTP katalysiert<sup>[279]</sup>. Ursprünglich wurden hierbei Enzyme aus tierischem Gewebe verwendet. Da die Synthetase dort nur in relativ geringen Konzentrationen vorliegt, können kaum größere Mengen des Enzyms von konstanter Qualität erhalten werden. Neben einer unbefriedigenden Stabilität war auch die geringe spezifische Aktivität gereinigter tierischer Synthetasen mit ca. 0.2 U/mg zu gering, um größere präparative Synthesen zu ermöglichen<sup>[66,84,280,281]</sup>.

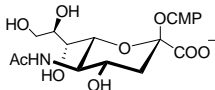
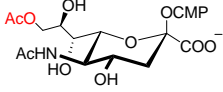
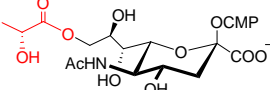
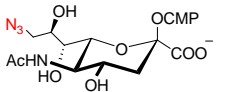
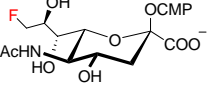
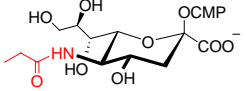
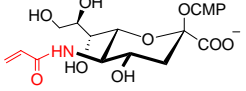
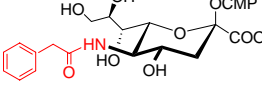
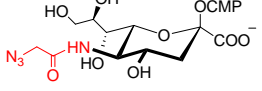


**Abb. 70:** Enzymatische Synthese von CMP-Neu5Ac

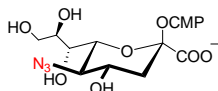
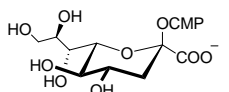
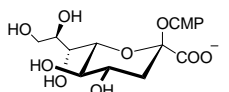
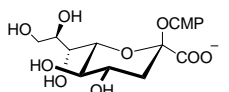
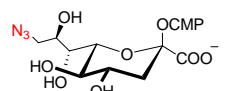
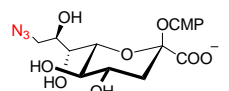
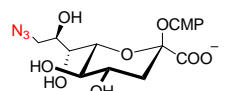
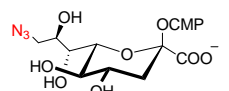
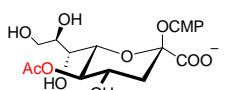
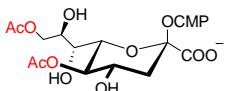
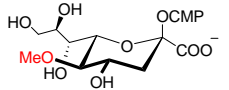
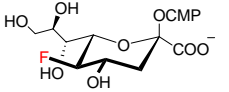
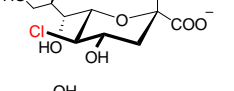
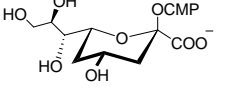
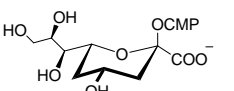
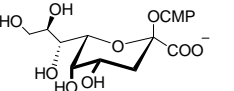
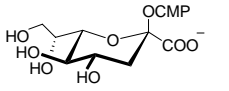
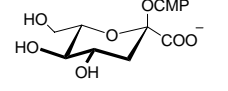
Neben tierischen Quellen können Synthetasen darüber hinaus auch aus Mikroorganismen gewonnen werden<sup>[282-291]</sup>. Die erstmalige Isolierung einer CMP-Sialat-Synthetase gelang aus *Neisseria meningitidis* Serogruppe B<sup>[282]</sup>. Allerdings macht neben der nur sehr geringen spezifischen Aktivität der Synthetase im Zellextrakt auch das pathogene Verhalten des Bakteriums diese als Enzymproduzent ungeeignet. Die Klonierung und Expression einer Synthetase aus *Neisseria meningitidis* Serogruppe Y in *E. coli* lieferte ein rekombinantes Enzym mit relativ hohen Aktivitätswerten<sup>[284]</sup>. Die Substratspezifität beschränkte sich neben der natürlichen Neu5Ac lediglich auf die am Stickstoff modifizierten Neu5Prop und Neu5Gc<sup>[285]</sup>. Eine aus dem pathogenen Mikroorganismus *E. coli* K-235 (ATCC 13027; Serogruppe K1 O7) erhaltene CMP-Sialat-Synthetase ist das bislang einzige für Synthes Zwecke gründlich untersuchte und kommerziell erhältliche Enzym<sup>[109]</sup>. Diese CMP-Sialat-Synthetase, aus einem nicht pathogenen *E. coli*-Stamm produziert, zeigt neben relativ niedrigen Expressionsraten und einer geringen spezifischen Aktivität (2-3 U/mg) ein sehr

enges Substratspektrum, wobei nur einige wenige an C-9-modifizierte Sialinsäurestrukturen als Substrate akzeptiert werden. Erfreulicherweise gelang es erstmals Frau Dr. Knorst im Arbeitskreis eine rekombinante Synthetase aus *Neisseria meningitidis* Serogruppe B mit Hilfe eines hoch effektiven Überexpressionssystems im *E. coli* zu produzieren. Erste Untersuchungen zeigten eine erheblich Substrattoleranz bezüglich an C-5-modifizierten Sialinsäurestrukturen.

**Tabelle 17:** Substrattoleranz der CMP-*N*-Acetylneuraminsäure-Synthetase (CMP-NeuS)

Sialinsäure	Enzymquelle	Ausbeute (%)	Literatur
	Kalbshirn <i>E.coli</i> K1 <i>N. meningitidis</i> <i>S. agalactiae</i>	60 <sup>1</sup> , 75 <sup>3</sup> ++ <sup>4</sup> , 98 <sup>8</sup> 61-98 <sup>6</sup> , 62-95 <sup>6</sup> , 100, 80-98 <sup>8</sup> 99 <sup>8</sup>	[292,293] [109,126] [106,147,111,146] [126]
	Kalbshirn <i>E.coli</i> K1 <i>N. meningitidis</i>	52 <sup>1</sup> ++ <sup>4</sup> 84 <sup>6</sup>	[292] [109] [148]
	<i>E.coli</i> K1 <i>N. meningitidis</i>	++ <sup>4</sup> 72 <sup>6</sup>	[109] [148]
	<i>E.coli</i> K1 <i>N. meningitidis</i> <i>N. meningitidis</i> <sup>7</sup>	++ <sup>4</sup> 91 <sup>6</sup> 85 <sup>6</sup>	[109] [147] [295]
	<i>E.coli</i> K1	++ <sup>4</sup>	[109]
	<i>E.coli</i> K1 <i>N. meningitidis</i>	++ <sup>4</sup> 99	[240] [111]
	<i>N. meningitidis</i>	98	[111]
	<i>N. meningitidis</i>	67	[118]
	<i>E.coli</i> K1 <i>N. meningitidis</i> <i>S. agalactiae</i>	82 <sup>8</sup> 90 <sup>6</sup> , 82-90 <sup>6</sup> , 85-94 <sup>8</sup> 90 <sup>8</sup>	[146] [148,147,146] [146]

	Kalbshirn	80 <sup>2</sup>	[292]
	<i>E.coli</i> K1	57 <sup>8</sup>	[146]
	<i>N. meningitidis</i>	95 <sup>6</sup> , 75-80 <sup>6</sup> , 85-95 <sup>8</sup>	[148,147,146]
	<i>N. meningitidis</i> <sup>7</sup>	75-88 <sup>6</sup>	[295]
	<i>S. agalactiae</i>	81 <sup>8</sup>	[146]
	<i>N. meningitidis</i>	78 <sup>6</sup>	[148]
	<i>N. meningitidis</i>	87 <sup>6</sup>	[148]
	<i>N. meningitidis</i>	99 <sup>6</sup>	[148]
	Kalbshirn	45-55 <sup>2</sup> , 78 <sup>3</sup>	[294,293]
	Kalbshirn	80 <sup>3</sup>	[293]
	Kalbshirn	100 <sup>3</sup> , 45-55 <sup>2</sup>	[293,294]
	Kalbshirn	63 <sup>3</sup>	[293]
	<i>E.coli</i> K1	++ <sup>4</sup>	[290]
	<i>N. meningitidis</i>	90 <sup>6</sup>	[147]
	<i>N. meningitidis</i>	87 <sup>6</sup> , 65 <sup>6</sup>	[148,147]
	Kalbshirn	45-55 <sup>2</sup>	[294]
	<i>N. meningitidis</i>	100	[111]
	<i>N. meningitidis</i>	+ <sup>5</sup>	[111]
	Kalbshirn	13 <sup>2</sup>	[294]
	<i>E.coli</i> K1	<10	[290]
	<i>N. meningitidis</i>	99 <sup>6</sup> , 93, 82-97 <sup>8</sup>	[148,111,146]
	<i>S. agalactiae</i>	68 <sup>8</sup>	[146]

	<i>N. meningitidis</i>	86 <sup>6</sup> , 88-100 <sup>8</sup>	[148,146]
	Kalbshirn	26 <sup>1</sup> , 2.9 <sup>3</sup>	[292,293]
	<i>N. meningitidis</i>	97 <sup>6</sup> , 75-80 <sup>6</sup> , 80, 78, 90-99 <sup>8</sup>	[148,147,111,118,146]
	<i>N. meningitidis</i> <sup>7</sup>	75-80 <sup>6</sup>	[295]
	<i>S. agalactiae</i>	30 <sup>8</sup>	[146]
	<i>N. meningitidis</i>	91 <sup>6</sup> , 88 <sup>6</sup>	[147,148]
	<i>N. meningitidis</i> <sup>7</sup>	85-96 <sup>6</sup>	[295]
	<i>S. agalactiae</i>	80	[146]
	<i>N. meningitidis</i>	75 <sup>6</sup>	[148]
	<i>N. meningitidis</i>	65 <sup>6</sup>	[148]
	<i>N. meningitidis</i>	76 <sup>6</sup>	[148]
	Kalbshirn	1.6 <sup>3</sup>	[293]
	Kalbshirn	1.2 <sup>3</sup>	[293]
	<i>N. meningitidis</i>	+ <sup>5</sup>	[111]
	<i>N. meningitidis</i>	+ <sup>5</sup>	[111]
	<i>N. meningitidis</i>	+ <sup>5</sup>	[111]
	<i>N. meningitidis</i>	92 <sup>6</sup> , 97, 80-82 <sup>8</sup>	[148,111,146]
	<i>N. meningitidis</i>	+/- <sup>5</sup>	[118]

	<i>N. meningitidis</i>	+/- <sup>5</sup>	[118]
	<i>N. meningitidis</i>	+/- <sup>5</sup>	[118]
	<i>N. meningitidis</i>	+/- <sup>5</sup>	[118]
	<i>N. meningitidis</i>	+/- <sup>5</sup>	[118]
	<i>N. meningitidis</i>	+/- <sup>5</sup>	[118]
	<i>N. meningitidis</i>	89-90 <sup>6</sup>	[272]

++: sehr gutes Substrat +: gutes Substrat +/-: durchschnittliches Substrat

<sup>1</sup>: geschätzte Ausbeute nach dem Thiobarbitursäure-Assay

<sup>2</sup>: Ausbeute an gereinigtem Produkt

<sup>3</sup>: mit Hilfe eines radioaktiven Assays gemessener Umsatz nach 3 h

<sup>4</sup>: kinetische Messungen im Vgl. zu ManNAc

<sup>5</sup>: Phosphatassay nach Lanzetta

<sup>6</sup>: Ausbeute nach Sialylierung von Lac- bzw. LacNAc-Derivat. Erzeugung des CMP-Konjugats *in situ*

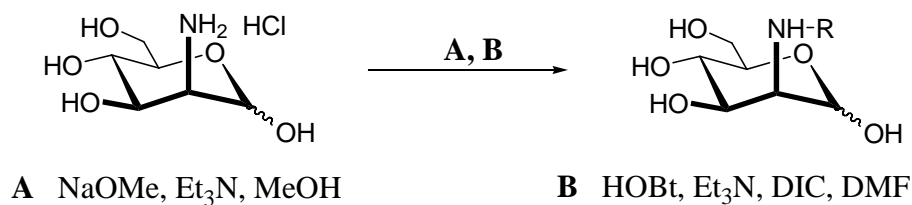
<sup>7</sup>: Verwendung eines Fusionproteins aus CMP-Synthetase und  $\alpha$ -2,3-Sialyltransferase

<sup>8</sup>: HPLC-Analyse

### 3.4.4 Synthese von N-modifizierten Mannosamin- und Mannose-Derivaten

Um das synthetische Potential der NeuS weitgehend testen zu können, sollten entsprechende Mannosamin-Derivate hergestellt und deren Umsetzung in der Lyase-katalysierten Reaktion getestet werden, wobei bereits von Frau Dr. Knorst getestete Verbindungen als Referenz gefragt waren. Obwohl die Synthese von am Stickstoff modifizierten CMP-Sialinsäuren prinzipiell über die Reduktion der 5-Desoxy-5-Azido-neuraminsäure und anschließende Acylierung erreichbar ist<sup>[264,296]</sup>, war im Hinblick auf Reinigungsprobleme der hoch polaren Produkte sowie der hohen Wertschöpfung der Verbindungen vom ökonomischen Standpunkt her gesehen eine nachträgliche Modifikation an der fertigen Neuraminsäure kaum zu



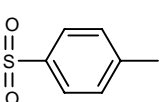
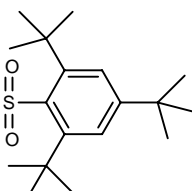
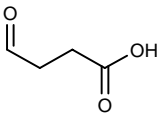
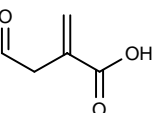
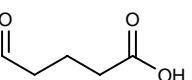
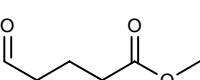
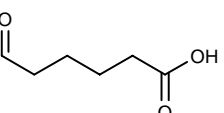
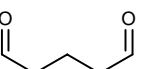
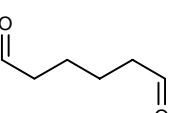
rechtfertigen. Aus diesem Grund wurden zunächst Mannosamin-Derivate nach gängigen Literaturverfahren durch Acylierung von D-Mannosamin hergestellt und durch Chromatographie an Kieselgel aufgereinigt<sup>[146,199,204,242,297]</sup>.



**Tabelle 18:** Synthetisierte Mannosamin- bzw. Bis-Mannosamin-Derivate.

Verbindung	R	Methode	Ausbeute (%)	Literatur
ManNProp <b>163</b>		<b>A</b>	76	[111,112,240]
ManNBut <b>164</b>		<b>A</b>	100	[112]
ManNCrot <b>165</b>		<b>A</b>	76	
ManNVal <b>166</b>		<b>A</b>	72	[112,242]
ManNPenten <b>167</b>		<b>A</b>	100	
ManNHex <b>168</b>		<b>B</b>	80	[112,240]
ManNAcPh <b>169</b>		<b>A</b>	65	[118]
ManNAcOH <b>171</b>		<b>A</b>	74 <sup>1)</sup>	[146]
		<b>B</b>	93	
ManNAcCl <b>172</b>		<b>B</b>	74	[240]
ManNAcBr <b>174</b>		<b>A</b>	70 <sup>2)</sup>	
		<b>B</b>	32	



ManNAcN <sub>3</sub> <b>175</b>		3)	51	[146]
ManNMs <b>176</b>		<b>B</b>	66	
ManNTos <b>177</b>		<b>B</b>	65	
ManNMes <b>178</b>		<b>B</b>	65	
ManNSuc <b>179</b>		<b>A</b>	38	
ManNita <b>180</b>		<b>A</b>	67	
ManNGlu <b>181</b>		<b>A</b> <b>B</b>	87 44	
ManNGluMe <b>182</b>		4)	25	
ManNAdip <b>183</b>		<b>A</b> <b>B</b>	9 30	
DiManNGlu <b>184</b>		<b>A</b> <b>B</b> <b>B</b>	74 52 79 <sup>5)</sup>	
DiManNAdip <b>185</b>		<b>A</b> <b>B</b>	32 42	

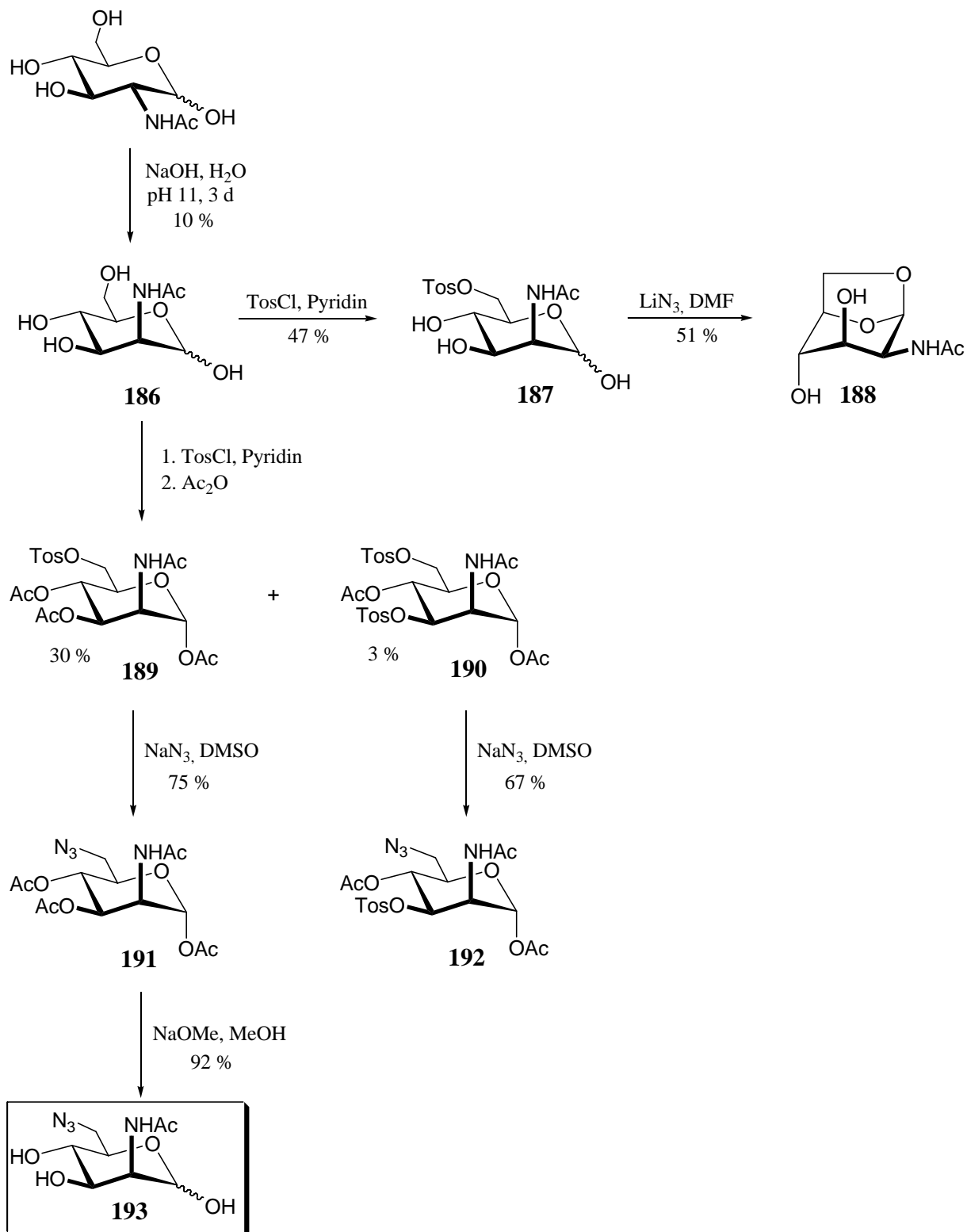
<sup>1)</sup> Umsetzung mit *N*-Hydroxy-succinimidyl-glycolat **170**<sup>[298]</sup>. <sup>2)</sup> Umsetzung mit *N*-Hydroxy-succinimidyl-bromoacetat **173**<sup>[299]</sup>. <sup>3)</sup> Nach Substitution von **174**. <sup>4)</sup> Veresterung von **181** mit Diazomethan. <sup>5)</sup> Ausgehend von **181**

Neben den erstmals synthetisierten *N*-Mesyl- und *N*-Tosyl-Mannosamin-Derivaten galt vor allem das Interesse der Synthese der *N*-acylierten Mannosamin-Derivate mit einer Carbonsäure bzw. Carbonsäureester als funktioneller Gruppe. Hierbei gelang die Herstellung des entsprechenden Succinylamids **179**, Itaconoylamids **180**, Glutarylamids **181** und Adipoylamids **183** in mäßigen bis guten Ausbeuten (**Tabelle 18**). Dagegen gelang die Isolierung der gewünschten Produkte bei der Umsetzung von Mannosamin mit Malonsäure, Maleinsäureanhydrid und Fumarsäuredichlorid nicht. Hierbei wurde nach der bereits eingesetzten Methode im DC immer die Bildung mehrerer Produkte beobachtet, die nicht getrennt werden konnten. Zwar wurde im  $^1\text{H}$ -NMR das gewünschte Produkt detektiert, für weitere präparative Zwecke waren jedoch die Produktmischungen nicht brauchbar. Interessanterweise gelang es auch direkt aus Mannosamin die Bis-Amide **184** und **185** in akzeptablen Ausbeuten in reiner Form zu isolieren. Diese sollten als bisher noch nicht getestete Substanzen für Synthetase- bzw. Aldolase-katalysierte Reaktionen eingesetzt werden.

Auch die Synthese Azid-funktionalisierter ManNAc- bzw. Mannose-Derivate ist von Interesse, nachdem die Arbeitsgruppe um *Bertozzi* zeigen konnte, dass diese über den natürlichen Metabolismus aufgenommen und in die Zelloberflächen in Form von Neu5Ac-Aziden eingebaut werden<sup>[300]</sup>. Die Synthese des entsprechenden Precursors 6-Azido-ManNAc **193** gelingt hierbei ausgehend vom kostengünstigeren GlcNAc (**Abb. 70**). Durch chemische basische Epimerisierung wird zuerst ManNAc **186** erhalten<sup>[259,301,302]</sup>. Jedoch gelang es nicht, nach *O*-Tosylierung und anschließender Substitution mit  $\text{LiN}_3$  in DMF das gewünschte Azid **193** zu erhalten. Nach chromatographischer Aufreinigung wurde das erhaltene Hauptprodukt als 1,6-Anhydro-*N*-acetyl-2-desoxy- $\alpha$ -D-mannosid **188** identifiziert. Über den Umweg der Tosylierung mit anschließender Peracetylierung wurde zuerst das geschützte Tosylat **189** erhalten, das nach Aufreinigung durch Substitution mit  $\text{NaN}_3$  in das entsprechende Azid **191** überführt wurde und nach Zémpfen zum gewünschten freien Zucker **193** entschützt wurde. Als Nebenprodukt der Tosylierung konnte das 3,6-disubstituierte Produkt **190** isoliert werden. Trotz eines Überschusses an  $\text{NaN}_3$  wurde darin lediglich der primäre Sulfonester an C-6 in das Azid **192** überführt, während der Tosylat-Rest am sekundärem C-3 stabil blieb.

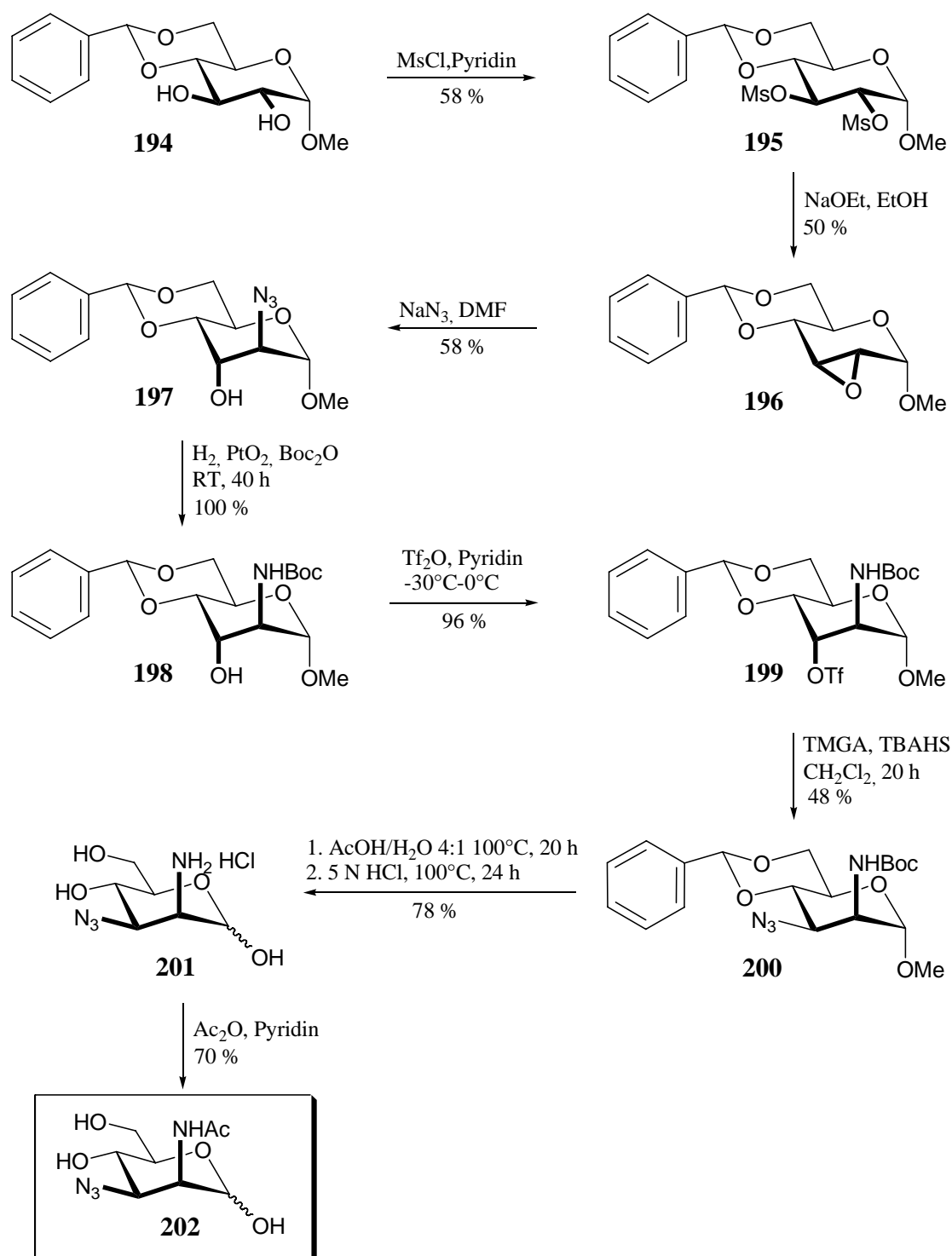
Obwohl von *Itzstein* zeigen konnte, dass C-3-Stickstoff-substituierte ManNAc-Derivate von der Aldolase nicht als Substrat erkannt werden<sup>[303]</sup> und somit in den zuvor beobachteten Studien die Hydroxyl-Gruppe an C-3 essentiell ist<sup>[107]</sup>, gab es bis jetzt keine Aussage über die entsprechende Substratspezifität der Neu5Ac-Lyase. Solche ManNAc-Derivate, falls vom Enzym akzeptiert, hätten das Potential, direkt das Stickstoffisoster der Neu5Ac zu generieren.

Dieser „Azazucker“ zeigt z. B. inhibierende Wirkung gegenüber der Sialidase aus *Vibrio cholerae*.



**Abb. 70:** Syntheseroute von 6-Azido-ManNAc **193**

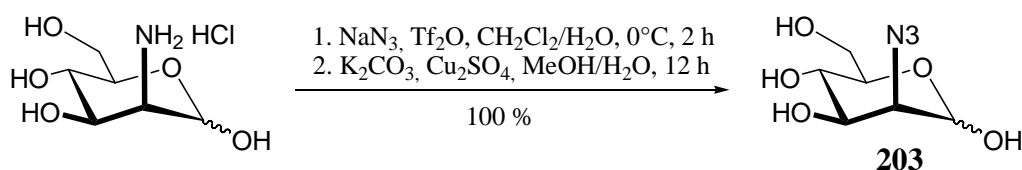
Die Synthese des 3-Azido-ManNAc-Derivats wurde in Anlehnung an Literaturprotokolle durchgeführt<sup>[303,304]</sup>. Ausgehend vom leicht zugänglichen 4,6-O-benzylidengeschützten Glucosid **194** wurde über den Methansulfonatester **195** das Epoxid **196** erhalten (**Abb. 71**). Durch nucleophile Öffnung des Epoxids erhielt man das entsprechende Altrose-Azid **197**. Die direkte S<sub>N</sub>2-Substitution eines 2,3-*trans*-diaxialen 2-*N*-Acetamido-altrosids mit Azid am C-3 via dem Methansulfonatester hätte dagegen zur Bildung eines unerwünschten Epimins geführt<sup>[305]</sup>.

Abb. 71: Syntheseroute von 3-Azido-ManNAc **202**

Um jedoch die intermolekulare Substitution gegenüber dem intramolekularen Angriff zu favorisieren, bedarf es einer Herabsetzung der *N*-Nukleophilie am C-2. Hierbei erwies sich die *N*-Boc-Gruppe als besonders gut geeignet. Aus der Eintopfreaktion aus katalytischer Hydrolyse des Azids **197** und Boc-Schützung wurde praktisch in quantitativer Ausbeute der

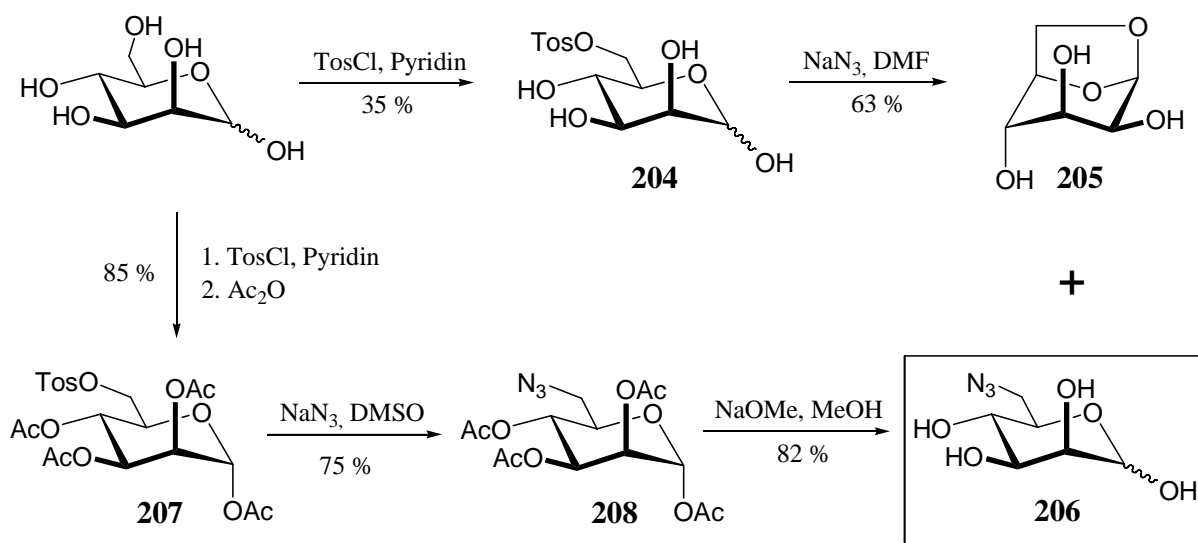
*N*-Boc-geschützte Alkohol **198** erhalten. Über eine Aktivierung zum 3-*O*-Trifluormethansulfonat **199** wurde durch Azid-Substitution unter Umkehrung der Konfiguration am C-3 das 3-Azido-3desoxy-mannosid **200** erhalten. Im Unterschied zur Literatur<sup>[303]</sup> führte der Einsatz von *N,N,N',N'*-Tetramethyl-guanidiniumazid als Azid-Quelle in Dichlormethan als Lösemittel zu den besten Ergebnissen. Die Entschützung der einzelnen Schutzgruppen wurde stufenweise im sauren Medium durchgeführt und ergab das Amin als Hydrochlorid **201**, welches mittels chemoselektiver *N*-Acetylierung das gewünschte 3-Azido-ManNAc-Derivat **202** lieferte.

Um die Substrattoleranz der Neu5Ac-Synthase weiter zu untersuchen, war z. B. neben den bereits getesteten ManNAc-Analoga auch die 2-Azido-2-desoxy-mannose **203** von Interesse. Diese wurde nach literaturbekannter Methode in quantitativer Ausbeute aus dem Mannosamin-Hydrochlorid erhalten<sup>[146,306]</sup>.



**Abb. 72:** Synthese von 2-Azido-2-desoxy-mannose **203**

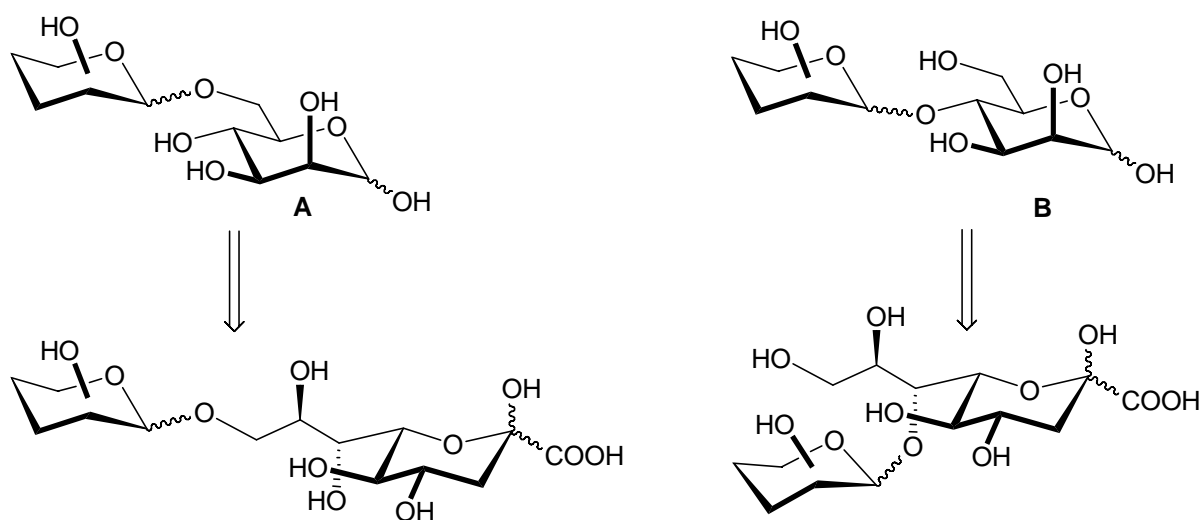
Nach der Entdeckung von KDN-Glycokonjugaten in Bakterien und Säugern<sup>[307,308]</sup> ist das Interesse an solchen Strukturen in den letzten Jahren enorm gestiegen. Enzyme wie z. B. KDN-spaltende Sialidasen, die KDN-enhaltende Konjugate selektiv erkennen und metabolisieren, wurden charakterisiert<sup>[309-311]</sup>. Der Zugang zu solchen komplexen Konjugaten erfordert zuerst die Synthese modifizierter KDN-Derivate. Diese sind z. B. über die Katalyse mit der Aldolase zugänglich<sup>[312]</sup>. Die Synthese des 9-Azido-9-desoxy-KDN erfordert z. B. die entsprechende 6-Azido-mannose **206**. Diese wurde bereits von *Chu*<sup>[313]</sup> beschrieben, jedoch ist wie bei der Synthese von 6-Azido-ManNAc **193** die Substitution des Tosylats **204** mit  $\text{NaN}_3$  in DMF zum gewünschten Azid **206** von der Bildung des 1,6-Anhydrids **205** begleitet. Die letzteren beiden Produkte ließen sich allerdings nur schwer trennen. Über eine alternative eigene Route konnte das geschützte Tosylat **207** in guten Ausbeuten erhalten werden, dessen Substitution zum Azid **208** dann problemlos verlief. Entschützung unter basischen Bedingungen lieferte die gesuchte 6-Azido-mannose **206** in sehr reiner Form und guter Gesamtausbeute.



**Abb. 72:** Synthese von 6-Azido-6-deoxy-D-mannose **206**

Nach Abschluss der eigenen Arbeiten sind disaccharidische Substrate ins Blickfeld der Forschung zur Substratspezifität von Aldolasen bzw. Lyasen spätestens dann gerückt, nachdem es *Yu* und *Chen* gelang, ausgehend von der  $\beta$ -D-Gal-(1 $\rightarrow$ 6)-D-mannose, durch Katalyse mit einer Aldolase zuerst die entsprechende Sialinsäure zu synthetisieren, welche anschließend durch weitere enzymatische Schritte zum einem Tetra-Saccharid aufgebaut wurde<sup>[272]</sup>. Solche und ähnliche Verbindungen sind interessant geworden auf Grund der Entdeckung und Charakterisierung KDN-haltiger Disaccharide, die darüber hinaus über weitere  $\beta$ -Verknüpfungen zu Polymeren verzweigt sind<sup>[261,297,314]</sup>. Aus ökonomischen Gesichtspunkten ist der Aufbau solcher Strukturen besonders reizvoll, da hier ausgehend von gezielt synthetisierten Disacchariden in kurzen und effektiven enzymkatalysierten Sequenzen komplexe Polysaccharide hoch selektiv aufgebaut werden könnten.

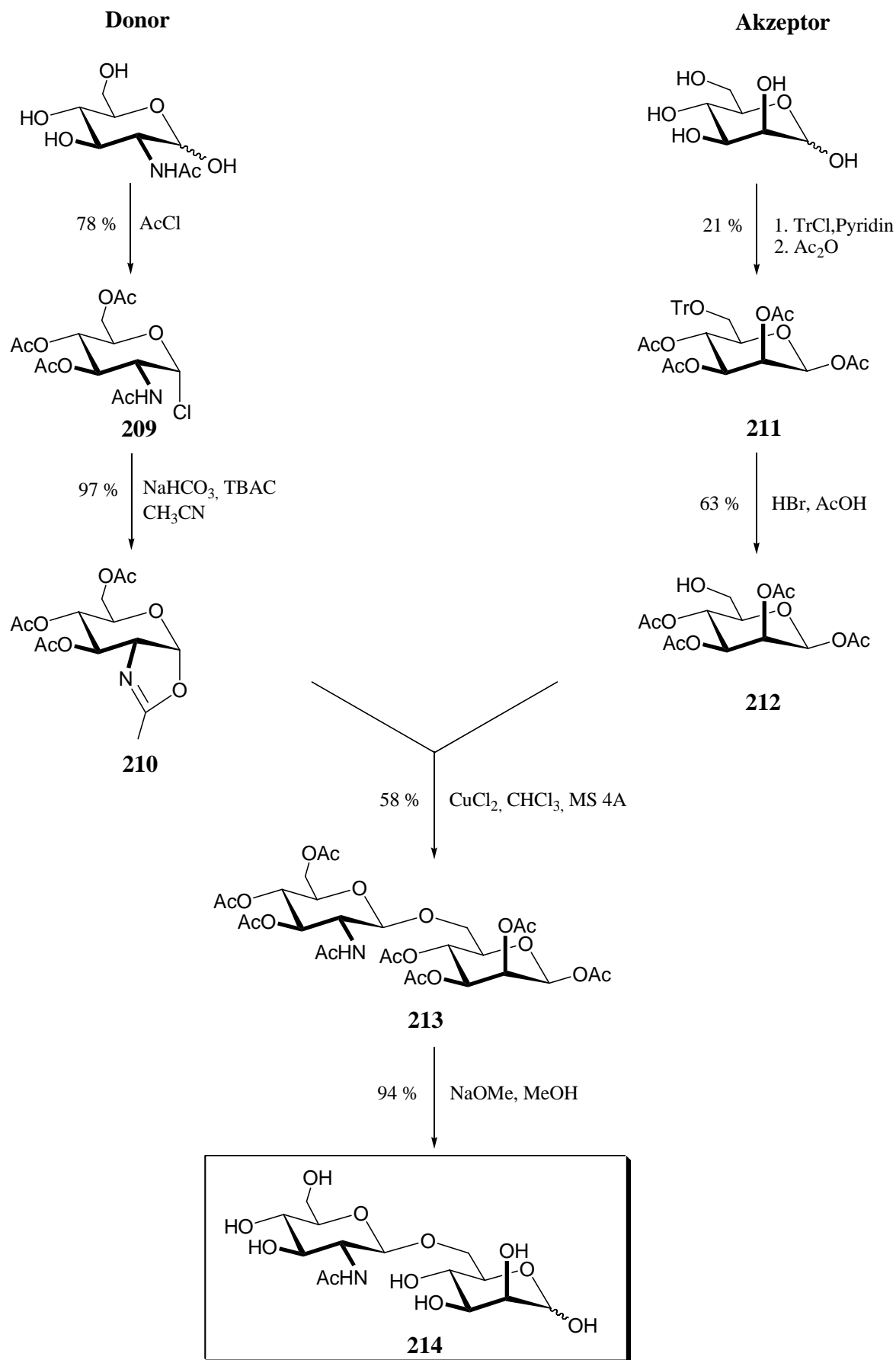
Im Zuge der eigenen Erkenntnisse aus der Kinetik von chemischen Additionsreaktionen an Disaccharide mit *gluco*- bzw. *manno*-Struktur sowie ersten orientierenden Studien zur alternativen Aldolase- bzw. Lyase-katalysierten enzymatischen Additionen war es offenkundig, dass reine Disaccharide mit *manno*-konfigurierten reduzierenden Ende benötigt wurden, um aussagekräftige Schlussfolgerungen zur präparativen Verwendbarkeit solcher Substrate für erweiterte Kettenverlängerungen erzielen zu können. Mit Hilfe von Modellverbindungen vom Typ **A** oder **B** sollte die Substrattoleranz der entsprechenden Aldolase bzw. Neu5Ac-Synthase getestet werden.



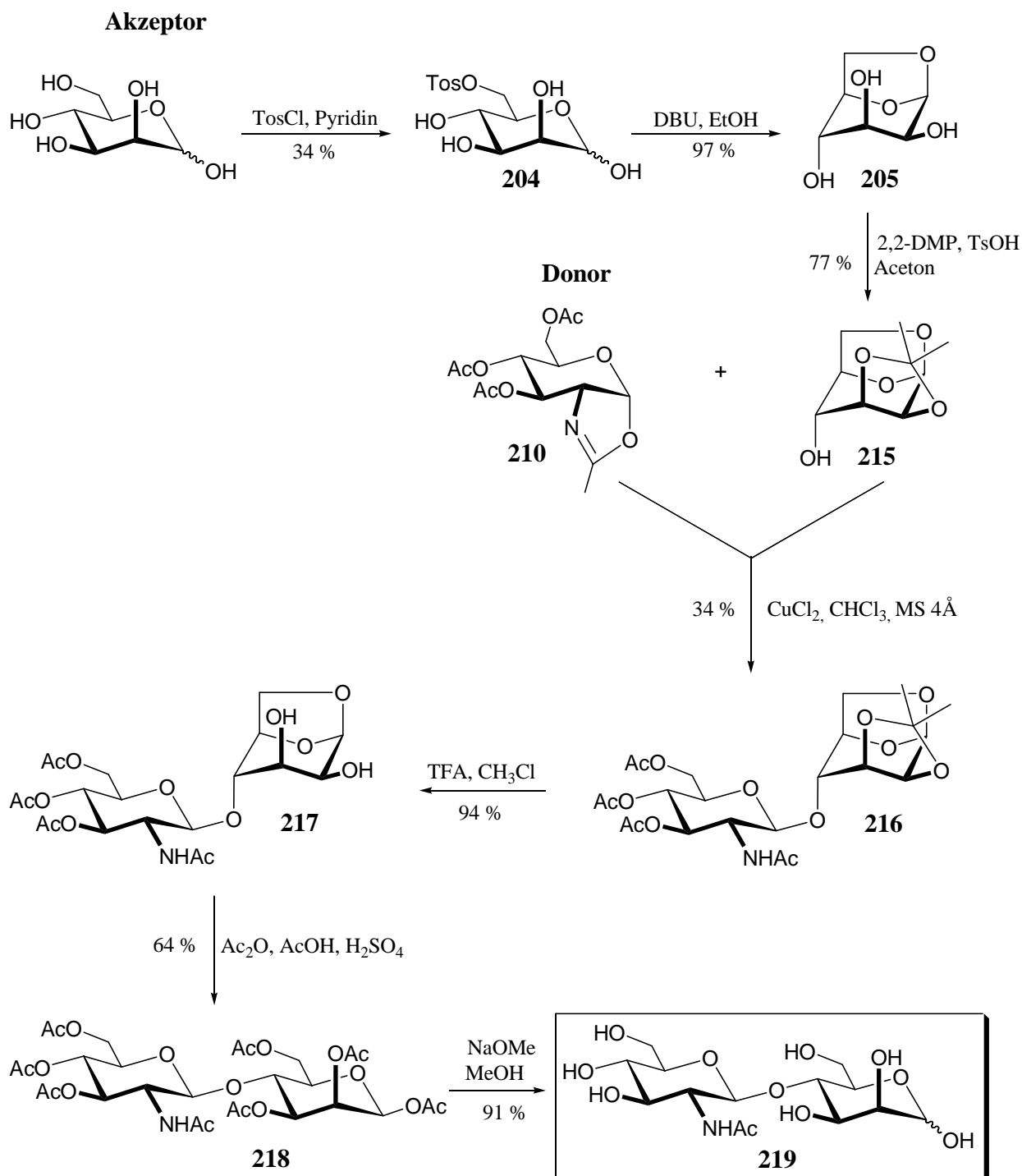
**Abb. 73:** Modellverbindungen zur Synthese von KDN-haltigen Disacchariden

Die Synthese des Donors zum Aufbau der  $\beta$ -D-GlcNAc-(1 $\rightarrow$ 6)-D-mannose **214** gelang ausgehend von GlcNAc über das  $\alpha$ -Chlorid **209** zum Oxazolin **210**<sup>[315]</sup> in guten Ausbeuten. Der entsprechende Akzeptor-Alkohol **212** wurde ausgehend von D-Mannose durch selektive Tritylierung an der C-6-Position, Acetylierung der restlichen OH-Gruppen und anschließender selektiver Entfernung der Trityl-Gruppe problemlos hergestellt<sup>[316]</sup>. Die Verknüpfung zum Disaccharid gelang nach der Methode von Wittmann und Lennartz, wobei wasserfreies  $\text{CuCl}_2$  als milder Aktivator für das Oxazolin eingesetzt wird<sup>[317]</sup>. In einer Gesamtausbeute von 7%, ausgehend vom Akzeptor, konnte **214** isoliert werden.



**Abb. 74:** Synthese von  $\beta$ -D-GlcNAc-(1 $\rightarrow$ 6)-D-Man **214**

Die Synthese von  $\beta$ -D-GlcNAc-(1 $\rightarrow$ 4)-D-mannose **219** verlief analog. Ausgehend vom Tosylat **204** konnte die 1,6-Anhydro-Komponente in fast quantitativer Menge gewonnen werden<sup>[318]</sup>. Nach Acetalisierung der OH-Gruppen an C-2 und C-3 konnte der Alkohol **215** erhalten werden<sup>[319]</sup>, der mit dem Donor **210** zum gewünschten Disaccharid **216** reagiert.



**Abb. 75:** Synthese von  $\beta$ -D-GlcNAc-(1 $\rightarrow$ 4)-D-Man **221**

Entfernung des Acetals durch Zugabe von TFA und anschließende Hydrolyse des Anhydrids mit gleichzeitiger Acetylierung der freien OH-Gruppen lieferten das Disaccharid **218**, welches nach Zemplén-Entschüttung als freier Zucker **219** (ca. 180 mg) in 5% Gesamtausbeute erhalten wurde<sup>[320]</sup>.

Einen wesentlich einfacheren Zugang zu seltenen 1,6- bzw. 1,4-verknüpften Zuckern mit D-Mannose als reduzierender Einheit bietet die  $\text{Ca}^{2+}$ -vermittelte C-2-Epimerisierung nach der Methode von Tanase<sup>[214]</sup> ausgehend von den kommerziell erhältlichen *gluco*-konfigurierten Disacchariden. Vorteil dieser Methode ist, dass neben den bereits vorher durch Vermittlung von Ni(II) oder Molybdän (VI) zugänglichen (1→6)-Disaccharide<sup>[321]</sup> auch die Epimerisierung von (1→4)-Disacchariden möglich ist. Trotz des Problems, dass eine präparative Trennung der Epimere im Rahmen eigener Untersuchungen zunächst nicht möglich war, könnten die erhaltenen Epimergemische direkt für die Enzym-katalysierte Reaktion zur Bildung von Sialinsäurederivaten eingesetzt werden. Unter der Voraussetzung, dass der *manno*-konfigurierte Anteil wegen der bisher beobachteten relativen Kinetik weit schneller abreagiert und der *gluco*-Anteil weitgehend unreaktiv bleibt, sollte eine anschließende Abtrennung der Sialinsäurederivate von den Neutralzuckern über Anionentauscher möglich sein.

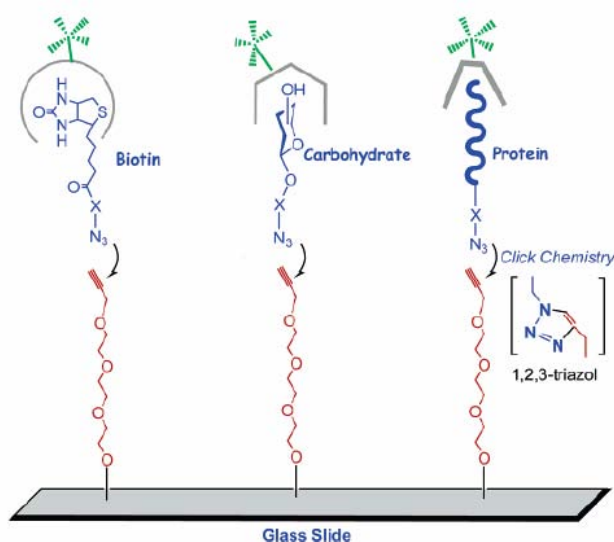
**Tab. 19:** C-2-Epimerisierung von Disacchariden durch Zugabe von  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O} / \text{Et}_3\text{N}$  in MeOH bei 60°C

Ausgangsverbindung	C-2-Epimer	C-2-Epimer (%) <sup>1)</sup>
Melibiose Gal( $\alpha$ 1→6)Glc	Gal( $\alpha$ 1→6)Man <b>220</b>	40
Isomaltose Glc( $\alpha$ 1→6)Glc	Glc( $\alpha$ 1→6)Man <b>221</b>	23
Gentibiose Glc( $\beta$ 1→6)Glc	Glc( $\beta$ 1→6)Man <b>222</b>	26
Maltose Glc( $\alpha$ 1→4)Glc	Glc( $\alpha$ 1→4)Man <b>223</b>	35 <sup>2)</sup>
Lactose Gal( $\beta$ 1→4)Glc	Gal( $\beta$ 1→4)Man <b>224</b>	30
Cellobiose Glc( $\alpha$ 1→4)Glc	Glc( $\alpha$ 1→4)Man <b>225</b>	15 <sup>3)</sup>
GlcNAc( $\beta$ 1→4)GlcNAc <b>80</b>	GlcNAc( $\alpha$ 1→4)ManNAc <b>81</b>	23

<sup>1)</sup> Bestimmung des C-2-Epimergehalts über  $^1\text{H}$ -NMR. <sup>2)</sup> Gemisch enthält 5 % Spaltprodukt Glucose/Mannose. <sup>3)</sup> Gemisch enthält 10 % Spaltprodukt Glucose

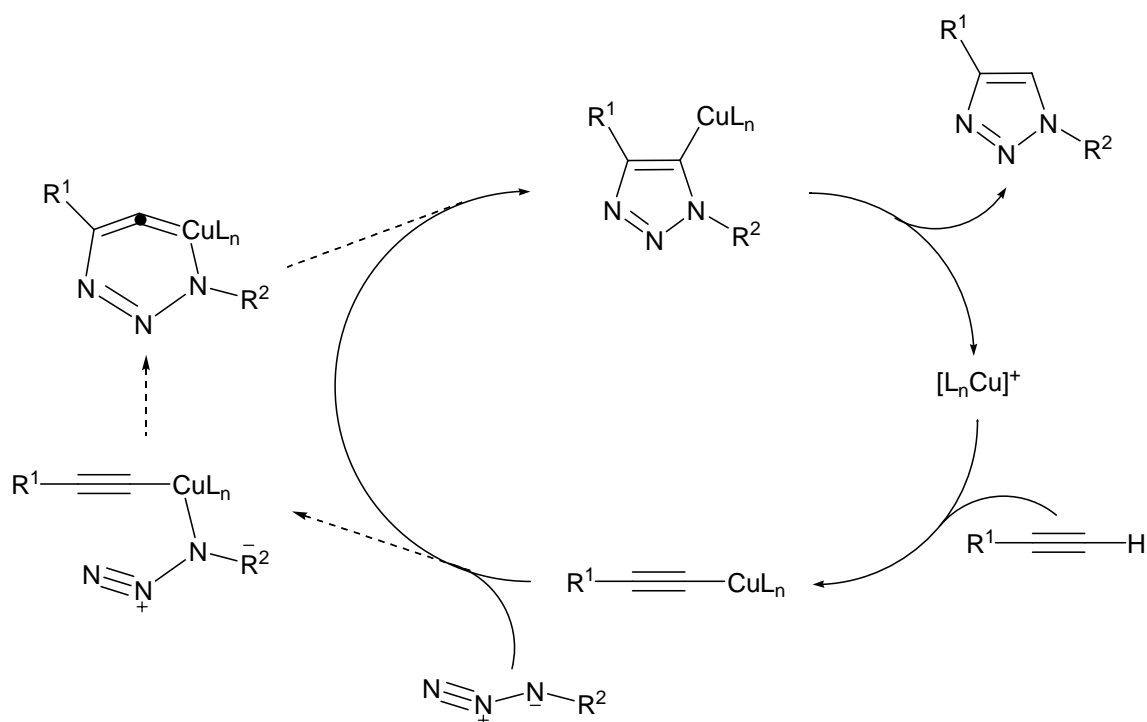
### 3.4.5 Synthese von konjugationsfähigen Mannose-Derivaten durch [2+3]-Cycloaddition

Die Cu(I)-katalysierte Cycloaddition von Aziden und Alkinen zu Triazolen, von *Sharpless et al.* auch als „click-chemistry“ apostrophiert<sup>[322]</sup>, ist vor allem in den letzten Jahren als wirkungsvolle Methode in der chemischen und biologischen Modifizierung von Biomolekülen etabliert worden<sup>[323-331]</sup>. Die Reaktanden, terminale Alkine und Azide, sind in der Regel leicht zugänglich, im Wässrigen stabil und reagieren gewöhnlich nicht mit organischen Reagenzien oder funktionellen Gruppen von Biomolekülen. Die Triazol-Bildung verläuft irreversibel und oft quantitativ ab. Zusätzlich profitiert diese Reaktion durch Einsatz des milden Cu(I)-Katalysators von der hohen Regioselektivität, welche durch die Variabilität des Lösungsmittels und des pH-Werts nicht beeinflusst wird. Die besondere Eigenschaft dieser Reaktion ist vor allem vielversprechend in der Kreierung neuer funktionalisierter Oberflächen<sup>[332,333]</sup>. Methoden wie das sogenannte „Microcontact printing“ ( $\mu$ CP) zeigen das hervorragende Potential der [2+3]-Cycloaddition<sup>[334]</sup>. Vor allem die Immobilisierung von Kohlenhydraten und Proteinen mittels einer derartigen Azid-Alkin-Cycloaddition ist unter besonders und selektiven Bedingungen von großem Interesse.



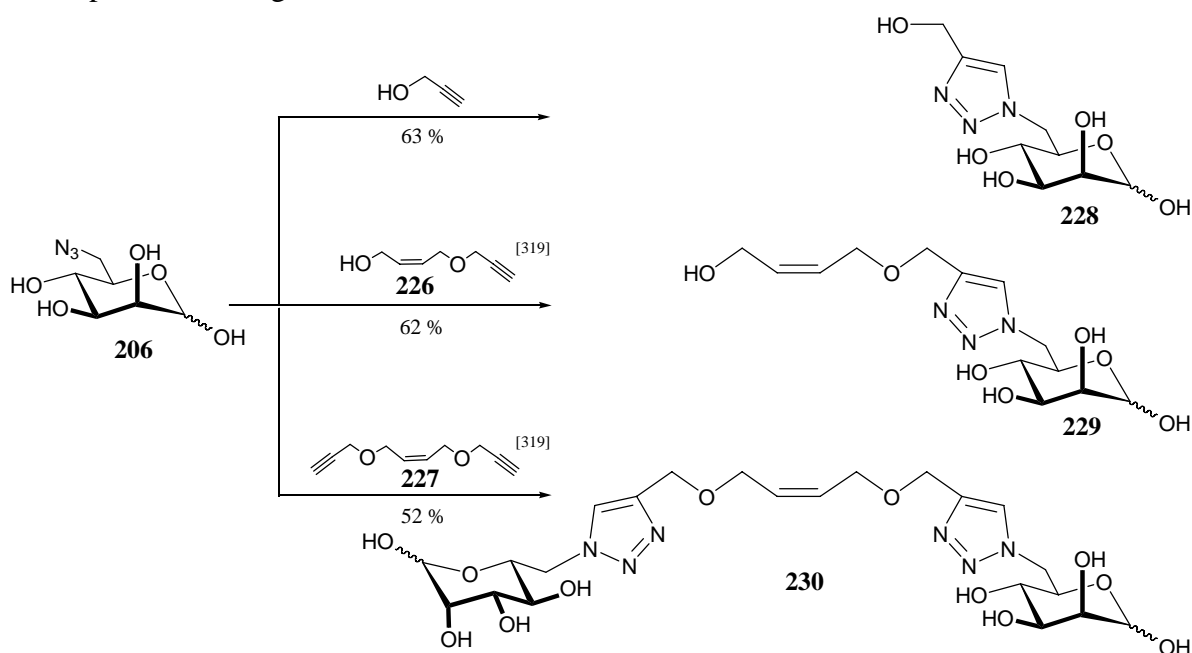
**Abb. 76:** Azid-Alkin-Cycloaddition von Biomolekülen<sup>[331]</sup>

Die [2+3]-Cycloaddition kann üblicherweise in polaren, aprotischen Lösungsmitteln wie DMF oder DMSO bei erhöhter Temperatur durchgeführt werden<sup>[335,336]</sup>. Einige in letzter Zeit erschienene Veröffentlichungen verschiedenen Arbeitsgruppen berichten über die Durchführung dieser Addition in Wasser durch Zugabe organischer Cosolventien wie EtOH, MeOH, *t*-BuOH oder  $CHCl_3$ <sup>[337-342]</sup>. Vorteil der Durchführung im Wässrigen ist z. B. die Reaktionsführung bei Raumtemperatur und der Verzicht auf hochsiedende organische Lösungsmittel. Die Generierung des Cu(I)-Katalysators geschieht *in situ* durch Reduktion von  $Cu_2SO_4$  mit Natriumascorbat. Die anschließende Cyclisierung verläuft regiospezifisch unter ausschließlicher Bildung des 1,4-disubstituierten Triazols.



**Abb. 77:** Vorgeschlagener Mechanismus der [3+2]-Cycloaddition nach Sharpless<sup>[323]</sup>

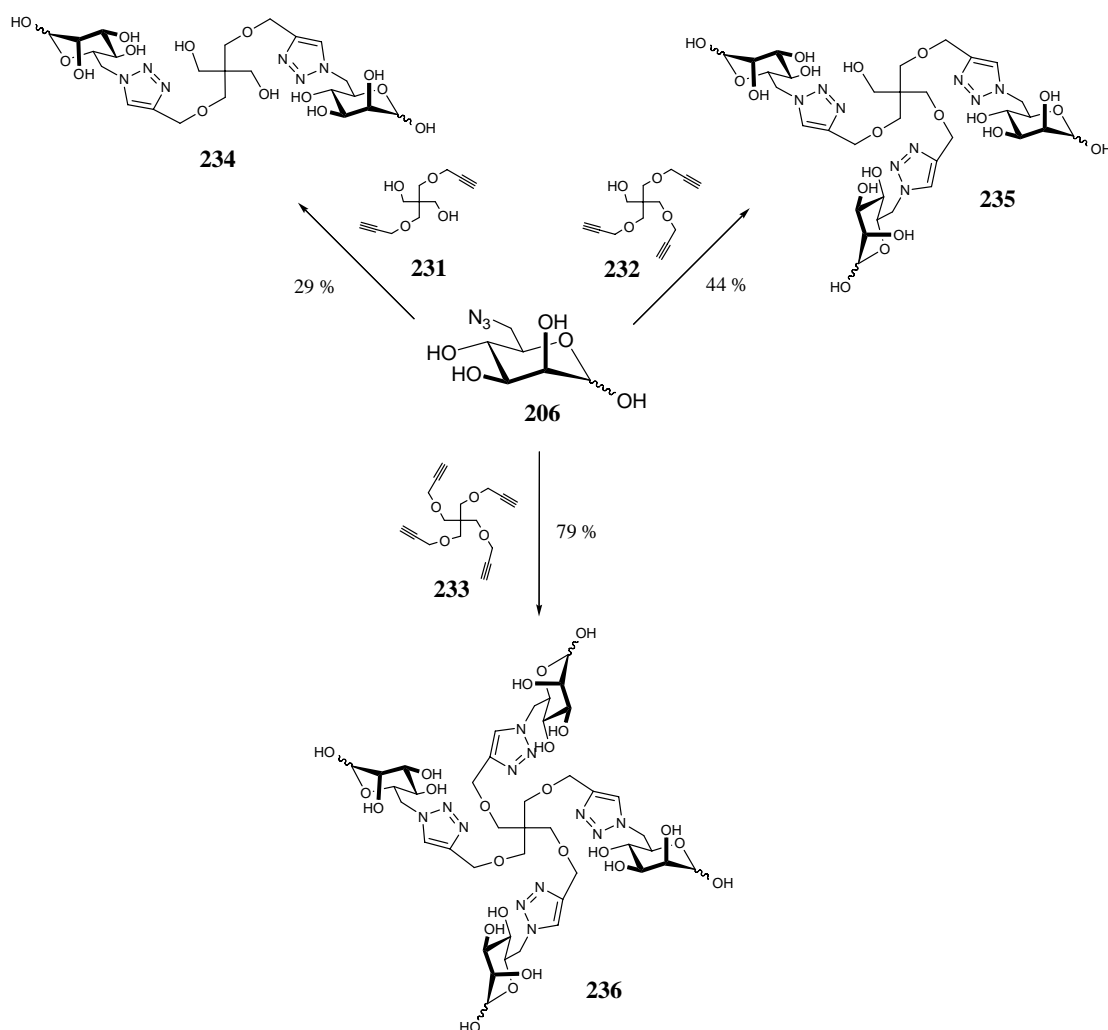
Um die Substrattoleranz der Neu5Ac-Aldolase für triazolhaltige Mannose-Derivate zu testen, wurden ausgehend von der 6-Azido-mannose **206** die Modellverbindungen **228-230** als Feststoffe nach Chromatographie an Kieselgel in guten Ausbeuten erhalten. Nebenproduktbildung wurde nicht beobachtet.



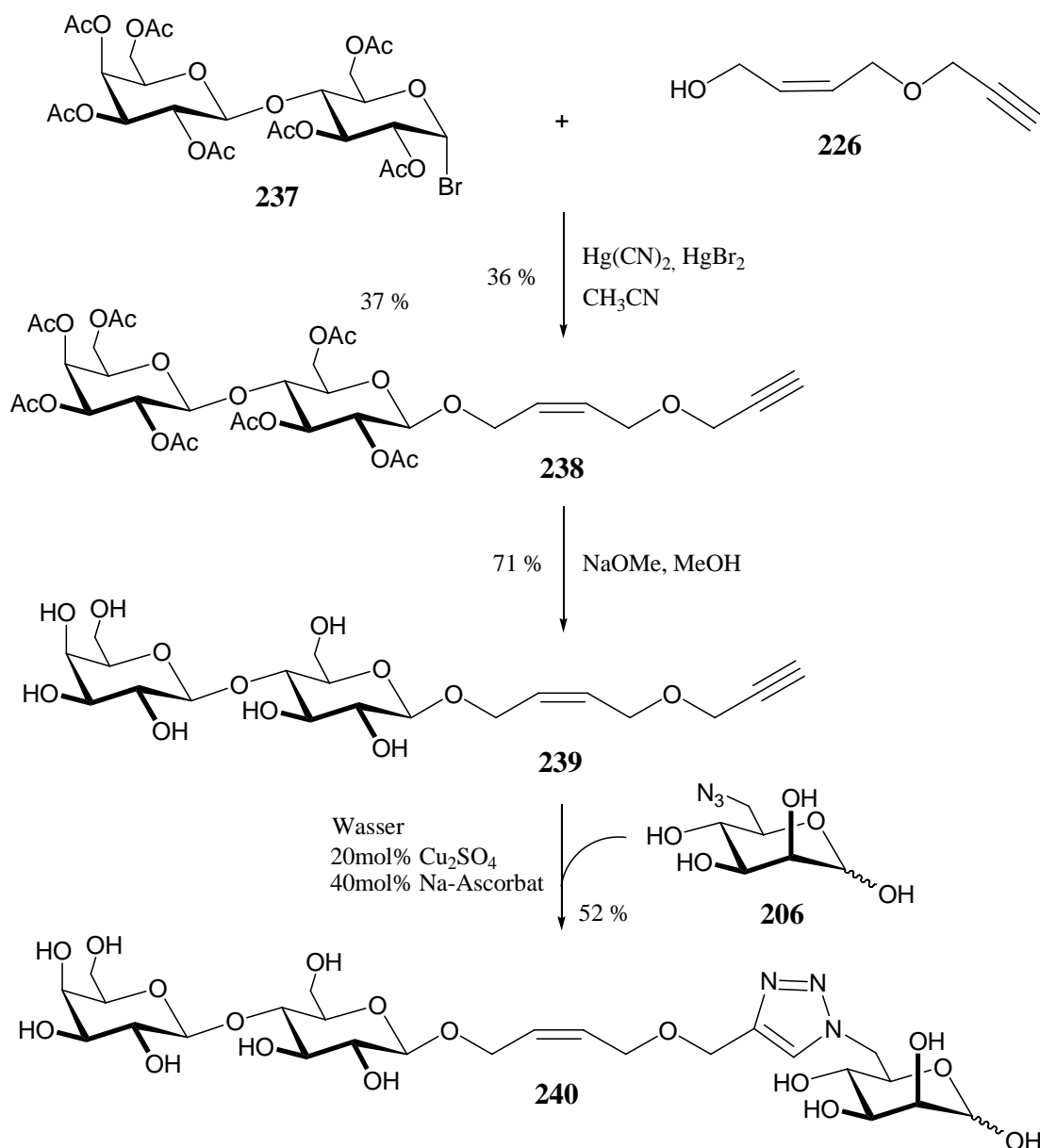
**Abb. 78:** Synthese von 6-konjugierten Mannose-Modellverbindungen **228-230**.  
Reaktionsbedingungen: 20 mol% Cu<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 40 mol% Na-Ascorbat, H<sub>2</sub>O/*t*-BuOH

Hinsichtlich der Auswahl der Triazole **229** und **230** ist hervorzuheben, dass diese die Möglichkeit offerieren, die C-C-Doppelbindung zu einem späteren Schritt ozonolytisch zu spalten und die daraus entstehenden reaktiven Produkte nach Bedarf z. B. an Amin-funktionalisierte Biomoleküle zu knüpfen.

In Anlehnung an Literatursynthesen von Triazoldendrimeren<sup>[343]</sup> bzw. Dendrimer-ähnlichen Strukturen<sup>[340,344]</sup> sowie der Verbrückung<sup>[330,345]</sup> von organischen Molekülen zu symmetrischen Makrostrukturen mittels der „Click-Reaktion“ wurde mit dem Ziel der anschließenden enzymatischen Umsetzung zu multivalenten Sialinsäuren die Oligomannosen **234-236** nach Chromatographie in teilweise guten Ausbeuten isoliert. Die entsprechenden Propargyl-Bausteine **231-233** wurden nach einem Literaturverfahren hergestellt<sup>[346]</sup>. Eine erfolgreiche Umsetzung der erhaltenen Triazol-verknüpfter Mannose-Derivate würde einen Zugang zu neuen symmetrischen KDN-Derivate bieten.



**Abb. 79:** Synthese multivalenter Triazole **234-236**. Reaktionsbedingungen: 20 mol%  $\text{Cu}_2\text{SO}_4$ , 40 mol% Na-Ascorbat,  $\text{H}_2\text{O}/t\text{-BuOH}$



**Abb. 80:** Synthese des spacerverknüpften Trisaccharids **240**

Die Synthese des Trisaccharids **240** aus Lactosylbromid **237** und dem Alkohol **226** über das Lactosid **238** nach *Helferich*, Entschützung und anschließender [3+2]-Cycloaddition mit der 6-Azido-mannose **206** in Wasser ist insofern interessant, da es eine Art Vorläufermolekül einer Zwitterverbindung ist. Das heißt, dass nach einer erfolgreichen Aldolase-katalysierten C-Kettenverlängerung zur 9-modifizierten Neuraminsäure und Aktivierung zum CMP-Konjugat ein Baustein vorliegt, der sowohl als Sialyl-Donor, als auch als Sialylakzeptor fungieren kann. CMP-Konjugate werden nämlich von einer Reihe von Sialyltransferasen auf Lactose bzw. Lactoside übertragen. Hiermit wäre die Möglichkeit zur enzymatischen Bildung eines Sialolactosepolymers gegeben.

### 3.4.6 Enzymatische Synthesen mit der Neu5Ac-Lyase aus *N. meningitidis*

Bei der Umsetzung der einzelnen ManNAc- bzw. Mannose-Derivate wurden zuerst Test-Ansätze in 1.5 mL-Eppendorf-Reaktionsgefäßen durchgeführt. Bei erfolgreichen Umsetzungen (DC-Kontrolle) wurden die Zucker dann präparativ zu den entsprechenden Sialinsäuren im Maßstab bis 5 mmol synthetisiert. Hierbei erwies es sich als vorteilhaft, PEP vorher in einer definierten Menge 2 N NaOH zu lösen und die benötigte Menge an PEP-Stammlösung (pH = 8.0) dem Reaktionsgemisch zuzugeben. Somit vermeidet man unnötige pH-Sprünge und die anschließende Einstellung des pH-Werts war wesentlich einfacher zu handhaben. Bei länger laufenden Reaktionen empfiehlt es sich, PEP in mehreren Portionen nachzudosieren. Wegen des bei der Lyase-katalysierten Reaktion entstehenden Phosphats, muss man bei Bedarf  $\text{Mn}^{2+}$  nachdosieren, weil dieses für die Enzymaktivität notwendige Kation als Phosphat ausfällt. Zur Aufarbeitung der Reaktionsansätze wurden zuerst gefällte Salze und denaturiertes Enzym abzentrifugiert, das Filtrat über einen Formiat- oder Ammoniumhydrogencarbonat-Ionentauscher gegeben und die Produkte nach Waschen mit Wasser mit 0.8-2 M Ameisensäure (0.2 M Schritte) oder 50-200 mM (50 mM Schritte) Triethylammoniumhydrogencarbonat-Lösung eluiert. Die Produktfraktionen wurden eingengt, mehrmals mit Wasser koevaporiert und lyophilisiert.

Wie aus **Tabelle 20** zu entnehmen, gelang mit der Lyase die Synthese *N*-acylierter Neuraminsäuren **241-250** und **252** in guten Ausbeuten. Erstmals konnten auch die *N*-Mesyl- und *N*-Tosyl-Neu5Ac-Derivate **253** und **254** erhalten werden. Ersatz von Tosyl gegen den sterisch anspruchsvolleren 2,4,6-Tri-isopropyl-phenoylsulfonyl (**178**) bzw. Dansyl-Rest (ManNDansyl), verhinderte den Umsatz. Dies könnte allerdings neben einer sterischen Inkompatibilität auch damit zusammenhängen, dass zur ausreichenden Löslichkeit der Edukte zum Puffer DMSO (30-50% v/v) zugegeben werden musste, was sich negativ auf die Enzymaktivität auswirken könnte.

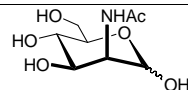
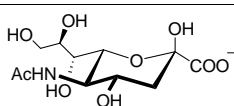
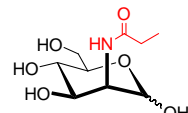
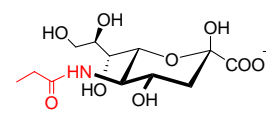
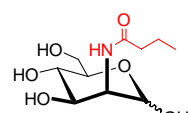
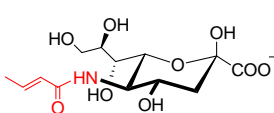
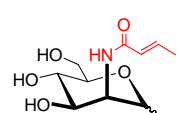
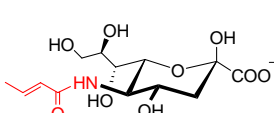
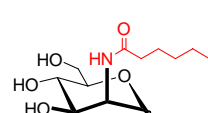
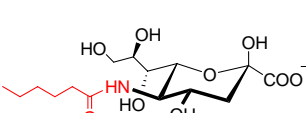
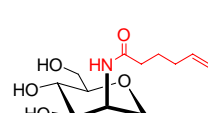
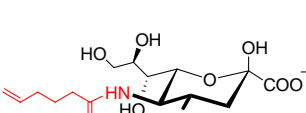
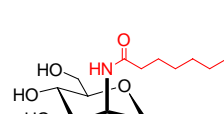
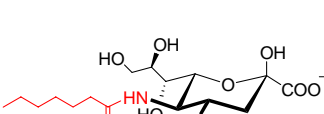
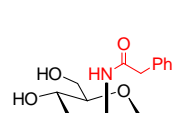
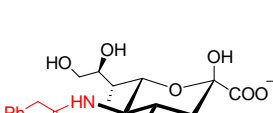
Die Umsetzung des 6-substituierten Tosylats **187** verlief trotz Nachdosierens des Enzyms nicht vollständig ab und nach Aufarbeitung wurde **257** lediglich in 23% Ausbeute isoliert. Die bereits von Knorst<sup>[111]</sup> auf Umsatz getestete sterisch anspruchsvolle ManNAhx konnte erstmals präparativ vollständig umgesetzt werden und das Produkt **259** charakterisiert werden. Entgegen den zuvor von Knorst im DC-Assay beobachteten schwachen Umsetzungen von ManNGly und ManNMet schlug der Versuch fehl, diese enzymatisch zu manipulieren. 2-Azido-mannose **203** und 3-Azido-ManNAc **202** scheinen ebenso keine Substrate für die Lyase zu sein. Letzteres lieferte, ähnlich dem fehlgeschlagenen Versuch der Umsetzung mit



der NeuA, den Beweis, dass die OH-Gruppe an C-3 essentiell für die Substratakzeptanz der Enzyme ist<sup>[303]</sup>.

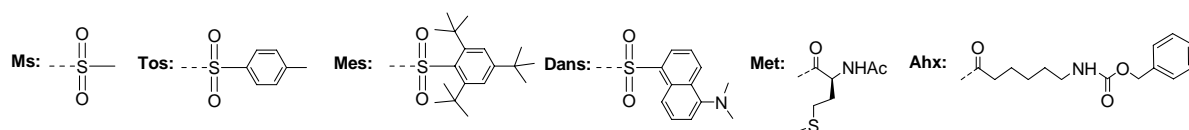
Die Anwesenheit einer Carboxy-Funktion, wie in den Mannose-Derivaten **180** und **181**, scheint die Enzymaktivität zu hemmen, da eine Umsetzung wurde nicht beobachtet werden konnte.

**Tabelle 20:** Substrattoleranz der *N*-Acetylneuraminsäure-Synthase (NeuS) aus *N. meningitidis*

Donor	Sialinsäure	Ausbeute (%) <sup>1)</sup>		
	ManNAc		Neu5Ac <b>241</b>	100
	ManNProp <b>163</b>		Neu5Prop <b>242</b>	83
	ManNBut <b>164</b>		Neu5But <b>243</b>	56
	ManNCrot <b>165</b>		Neu5Crot <b>244</b>	75
	ManNVal <b>166</b>		Neu5Val <b>245</b>	84
	ManNPenten <b>167</b>		Neu5Penten <b>246</b>	84
	ManNHex <b>168</b>		Neu5Hex <b>247</b>	84
	ManNAcPh <b>169</b>		Neu5AcPh <b>248</b>	66

	ManNAcOH <b>171</b>		Neu5AcOH <b>249</b>	87
	ManNAcCl <b>172</b>		Neu5AcCl <b>250</b>	76
	ManNAcBr <b>174</b>		Neu5AcBr <b>251</b>	- <sup>2)</sup>
	ManNAcN <sub>3</sub> <b>174</b>		Neu5AcN <sub>3</sub> <b>252</b>	48 100 <sup>3)</sup>
	ManNMs <b>176</b>		Neu5Ms <b>253</b>	74
	ManNTos <b>177</b>		Neu5Tos <b>254</b>	74
	ManNiPr <b>178</b>		Neu5Mes <b>255</b>	-
	ManNDans <sup>4)</sup>		Neu5Dans <b>256</b>	-
	9-Tos-ManNAc <b>187</b>		9-Tos-Neu5Ac <b>257</b>	23
	9-Azid-ManNAc <b>193</b>		9-Azid-Neu5Ac <b>258</b>	58
	ManNAhx <sup>4)</sup>		Neu5Ahx <b>259</b>	66
	ManNGly <sup>4)</sup>		Neu5Gly <b>260</b>	-
	ManNMet <sup>4)</sup>		Neu5Met <b>261</b>	-
	ManAzid <b>203</b>		Neu5Azid <b>262</b>	-

	3-Azido-ManNAc <b>202</b>		6-Azido-Neu5Azid <b>263</b>	-
	ManIta <b>180</b>		Neu5Ita <b>264</b>	-
	ManNGlu <b>181</b>		Neu5Glu <b>265</b>	-
	Epichitobiose <b>81</b> <sup>5)</sup>		$\beta$ GlcNAc(1 $\rightarrow$ 7)-Neu5Ac <b>266</b>	-
	$\beta$ GlcNAc(1 $\rightarrow$ 6)-D-Man <b>214</b>		$\beta$ GlcNAc(1 $\rightarrow$ 9)-KDN <b>267</b>	-
	$\beta$ GlcNAc(1 $\rightarrow$ 4)-D-Man <b>219</b>		$\beta$ GlcNAc(1 $\rightarrow$ 7)-KDN <b>268</b>	-
	Glucose		5- <i>epi</i> -KDN <b>269</b> <i>p/f</i> 45:54	15
	Galactose		5,7- <i>bisepi</i> -KDN <b>270</b> <i>p/f</i> 79:21	22



– kein Umsatz. <sup>1)</sup> präparative Ausbeute. <sup>2)</sup> Geringer Umsatz beobachtet, Verbindung nicht isoliert. <sup>3)</sup> Substitution von Neu5AcCl **250**. <sup>4)</sup> Verbindungen aus Beständen der Doktorarbeit von Dr. Knorst. Identitätsprüfung mittels <sup>1</sup>H-NMR und <sup>13</sup>C-NMR <sup>5)</sup> Epichitobiose **81** aus einem Gemisch mit Chitobiose **80**. *p* – pyranoider Struktur. *f* – furanoider Struktur

Disaccharide scheinen demnach ebenso keine Substrate für die NeuS zu sein. Sowohl bei den 1,6- (**214**), als auch den 1,4-verknüpften (**81**, **219**) Zuckern konnte in Testreaktionen trotz Nachdosieren des Enzyms keinerlei Transformation beobachtet werden.

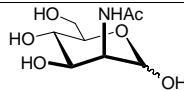
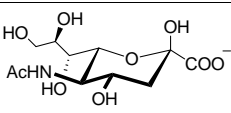
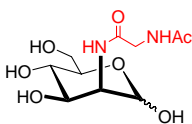
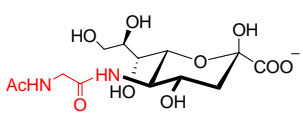
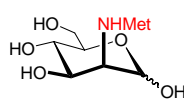
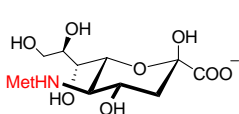
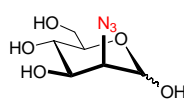
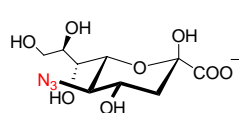
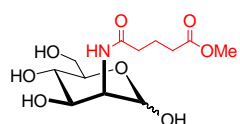
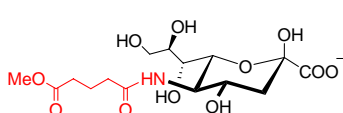
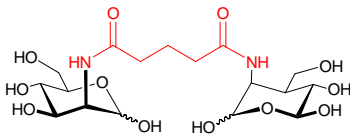
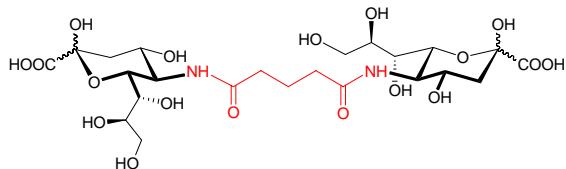
Die Isolierung und Charakterisierung der *epi*-KDN-Derivate **269** und **270** ausgehend von Glucose und Galactose sind die ersten präparativen Beispiele der NeuS-katalysierten Reaktion

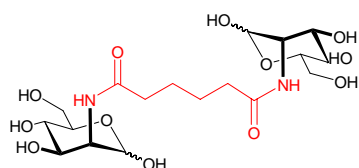
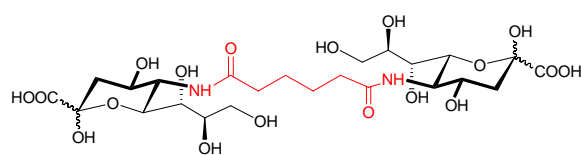
von nicht-*manno*-konfigurierten Zuckern. Hier liegen die entsprechenden Produkte im Gleichgewicht zwischen der pyranoiden und furanoiden Form vor.

### 3.4.7 Enzymatische Synthesen mit der Neu5Ac-Aldolase

Um sich dennoch den Zugang zu Sialinsäurestrukturen zu verschaffen, die mittels der NeuS-katalysierten Reaktion nicht erhältlich sind, wurden analoge Umsetzungen mit der Aldolase getestet, deren breite Substrattoleranz für sterisch anspruchsvoll substituierte Man/ManNAc-Derivate gut dokumentiert ist.

**Tabelle 21:** Substrattoleranz der *N*-Acetylneuraminsäure-Aldolase (NeuA) aus *E. coli* für *N*-acylierte Mannosamine

Donor	Sialinsäure	Ausbeute (%)
		62
		77
		65
		63
		58
		68
DiManNGlu <b>184</b>	BisNeu5Glu <b>272</b>	

DiManNAdip **185**BisNeu5Glu **273**

53

Hierbei gelang nicht nur z. B. die Umsetzung des ManNGly zu Neu5Gly **260** und ManNMet zu Neu5Met **261** in guten Ausbeuten, auch die bekannte Reaktion mit der 2-Azido-mannose als Substrat konnte gut reproduziert werden.

Bei Veresterung z. B. des Glutarylams **181** mit Diazomethan zum Methyl-Ester **182** konnte nach fast vollständigem Umsatz eine Ester-haltige Sialinsäure **271** erstmals in guter Ausbeute erhalten werden. Somit erhärtete sich der Verdacht, dass eine freie Carboxy-Funktion die Enzymumsetzung hemmt und somit ein direkter Zugang zu Sialinsäuren mit einer zusätzlichen Säure-Gruppierung in der Seitenkette nicht möglich ist.

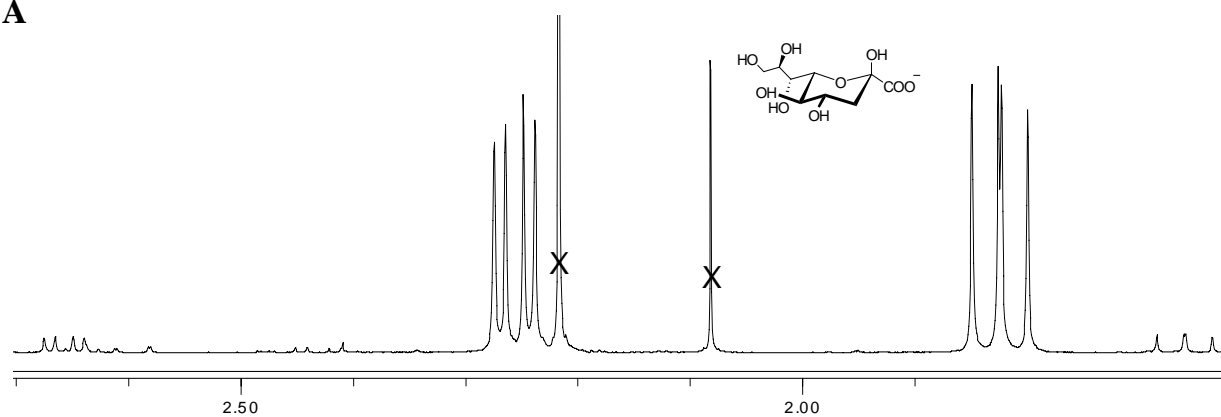
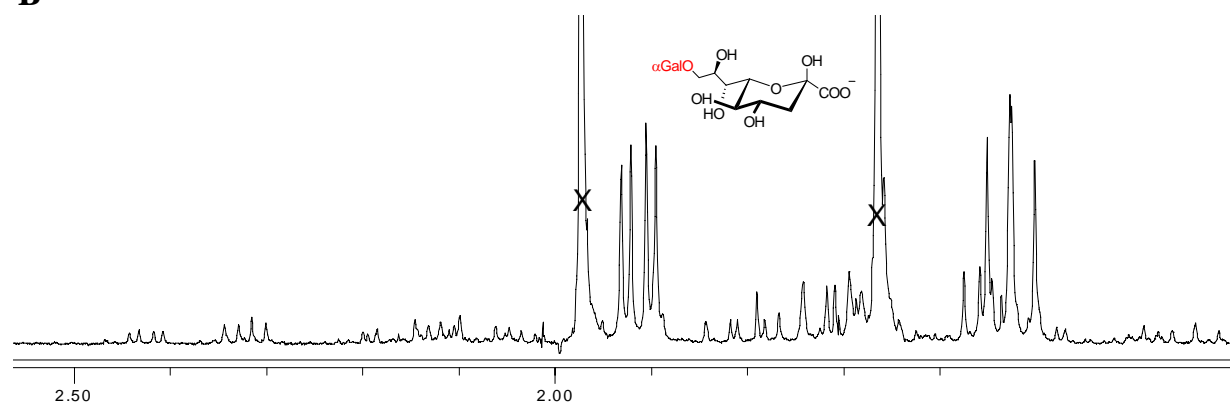
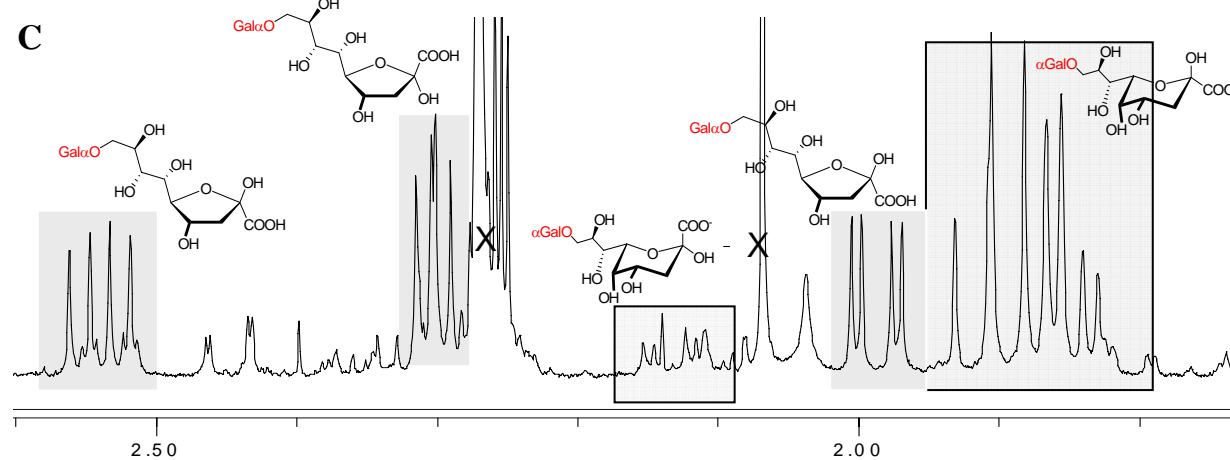
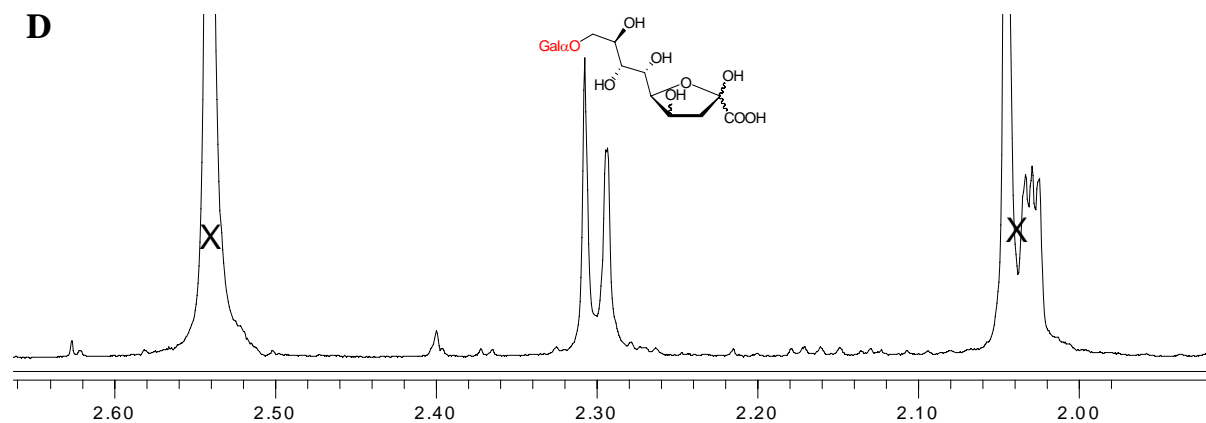
Erstmalig konnten auch die mittels Glutarsäure bzw. Adipinsäure verknüpften Mannosederivate **184** und **185** mit der NeuA erfolgreich umgesetzt werden. Hierbei zeigte die NeuA gegenüber der NeuS eine breitere Substrattoleranz auf auch für sterisch anspruchsvollerer Reste am Stickstoff (**Tabelle 21**). Dieser Trend konnte weiterhin bei den anschließenden Reaktionen mit der Auswahl an Disacchariden beobachtet werden (**Tabelle 22**). Mit dem Disaccharid **214** als Testfall konnte bei unvollständigem Umsatz in der Tat 18% der gewünschten Sialinsäure **267** isoliert werden. Einsatz des analogen 1,4-verknüpften Substrats **219** zeigte dagegen leider keine Produktbildung.

Im Hinblick auf die Synthese weiterer Sialinsäuren aus Disacchariden sollte ausgehend von der vereinfachenden Idee, aus Epimerengemischen den *manno*-konfigurierten Anteil kinetisch bevorzugt abreagieren zu lassen, zuerst die dabei unerwünschte Hintergrundreaktion des mengenmäßig deutlich überwiegenden *gluco*-Anteils untersucht werden. Dies wurde notwendig, weil bereits D-Glucose selbst - wenn auch als schlechtes Substrat - umgesetzt wurde. Zu diesem Zwecke wurden Melibiose und Isomaltose in Eppendorf-Reaktionsgefäßen über einen Zeitraum von 2 Wochen bei Raumtemperatur mit Pyruvat in Gegenwart von NeuA inkubiert. Tatsächlich konnten daraus 8 bzw. 5% der jeweiligen Produkte **275** und **277** isoliert werden. Setzte man nun das entsprechende 2-Epimerengemisch aus Melibiose und

Epimelibiose (Verhältnis 3:2) bei physiologischen Bedingungen von 37°C für nur 5 d um, so wurde zum großem Teil das epimerenreine Produkt **276** erhalten. Hiermit konnte also tatsächlich der erhoffte kinetische Effekt ausgenutzt werden, nach dem der *manno*-konfigurierte Anteil signifikant schneller als der *gluco*-Anteil abreagiert. Es zeigte sich jedoch, dass es empfehlenswert ist, die Reaktion rechtzeitig abubrechen, um die Bildung des ungewünschten Epimers weitgehend zu unterbinden. Letzteres konnte im Fall der Umsetzung des Epimerengemischs aus Isomaltose und Epiisomaltose (Verhältnis 77:23) beobachtet werden, wo sich bereits nach 4 d bei 37°C neben dem Wunschprodukt **278** auch ein beträchtlicher Anteil der Sialinsäure **277** bildete. Hier konnte trotz Komplexität der Spektren der relative Anteil von **278/277** zu 65:35 bestimmt werden.

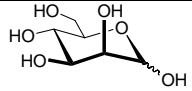
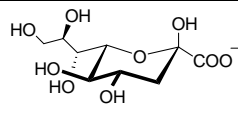
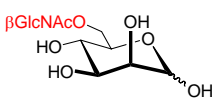
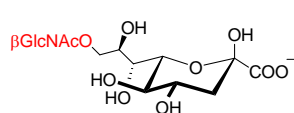
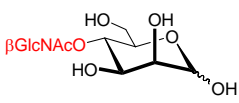
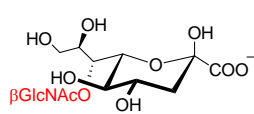
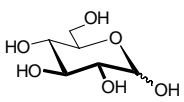
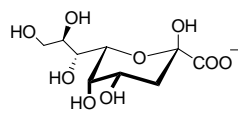
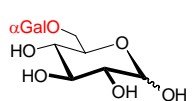
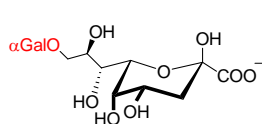
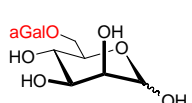
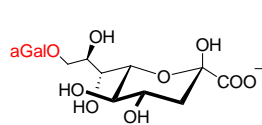
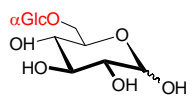
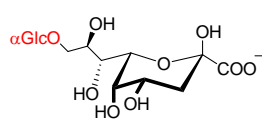
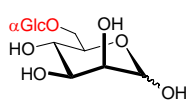
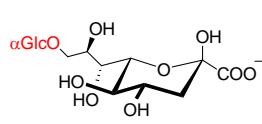
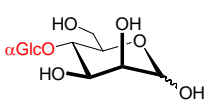
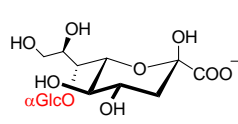
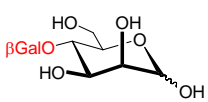
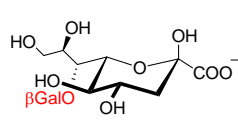
Die Auswertung der Spektren wurde erleichtert durch die Zuordnung der H-Protonen der Methylengruppe am C-3 ausgehend von KDN **274** und ist am Beispiel der Umsetzungen von Melibiose bzw. *epi*-Melibiose exemplarisch dargestellt (**Abb. 81**). Die Verbindung **276** weist die entsprechenden Signalmuster auf und kann somit als Hauptkomponente identifiziert werden (**B**). Dagegen tauchen bei der Sialinsäure **275** neben den erwarteten Kopplungsmustern neue Signalpaare auf, die den furanoiden Strukturen zuzuordnen sind (**C**). Als letztes Beispiel ist im Vergleich das Sialinsäurepaar **155/156** abgebildet.

Allgemein erwies sich allerdings die Aufreinigung der glycosylierten Sialinsäuren aus den Disacchariden als problematisch. Die Bindungsaffinität der entsprechenden Sialinsäuren an den Anionentauscher war nicht selektiv und nicht hoch genug, so dass mehrere Trennprozesse notwendig waren, um das Produkt vollständig vom Edukt bzw. von Pyruvat zu trennen. Eine mögliche Verbesserung bei der Isolierung wäre der Einsatz der Pyruvat-Decarboxylase, da man durch Decarboxylierung des überschüssigen Pyruvats die Salzfracht drastisch reduzieren und somit die Sialinsäure an den Anionentauscher besser binden könnte.

**A****B****C****D**

**Abb. 81:** Ausschnitt aus den  $^{15}\text{N}$ -NMR-Spektren **A-D**. **A:** 274 (KDN); **B:** 276; **C:** 275; **D:** 155/156

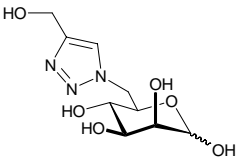
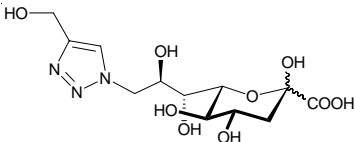
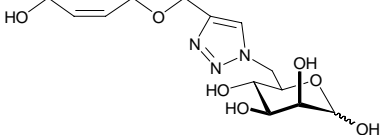
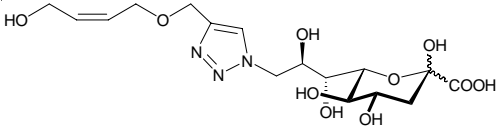
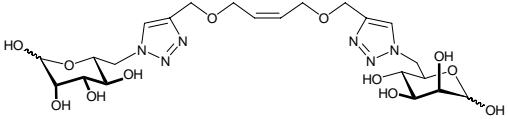
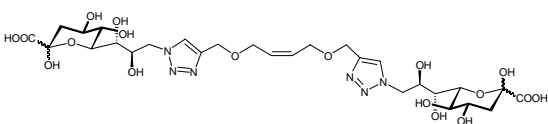
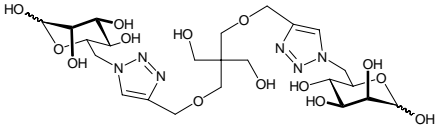
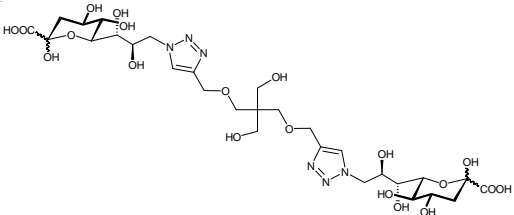
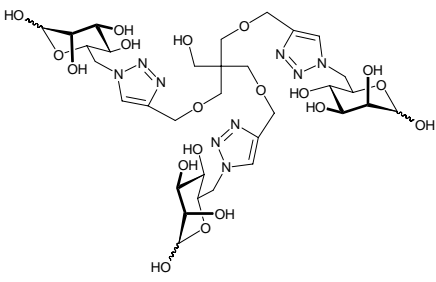
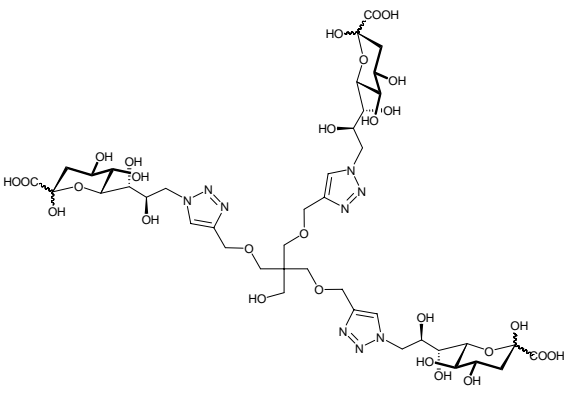
**Tabelle 22:** Substrattoleranz der *N*-Acetylneuraminsäure-Aldolase (NeuA) gegenüber Mannose-derivaten

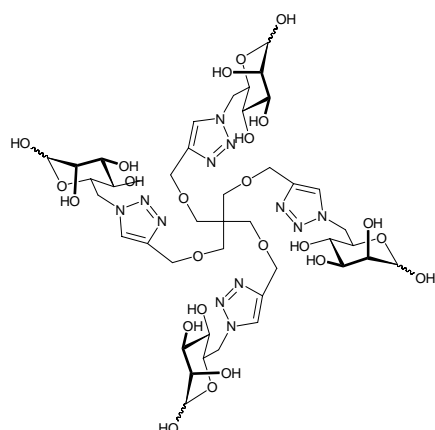
Donor		Sialinsäure	Ausbeute (%) <sup>1)</sup>
	Mannose		KDN <b>274</b> 51
	$\beta$ GlcNAc(1 $\rightarrow$ 6)- D-Man <b>214</b>		$\beta$ GlcNAc(1 $\rightarrow$ 9)- KDN <b>267</b> 18
	$\beta$ GlcNAc(1 $\rightarrow$ 4)- D-Man <b>219</b>		$\beta$ GlcNAc(1 $\rightarrow$ 7)- KDN <b>268</b> -
	Glucose		5- <i>epi</i> -KDN <b>269</b> <i>p/f</i> 45:54 8
	Melibiose		$\alpha$ Gal(1 $\rightarrow$ 9)-5- <i>epi</i> - KDN <b>275</b> <i>p/f</i> 49:51 8
	<i>epi</i> -Melibiose <b>220</b>		$\alpha$ Gal(1 $\rightarrow$ 9)-KDN <b>276</b> 21
	Isomaltose		$\alpha$ Glc(1 $\rightarrow$ 9)-5- <i>epi</i> - KDN <b>277</b> <i>p/f</i> 59:41 5
	<i>epi</i> -Isomaltose <b>221</b>		$\alpha$ Glc(1 $\rightarrow$ 9)-KDN <b>278</b> 40
	<i>epi</i> -Maltose <b>223</b>		$\alpha$ Glc(1 $\rightarrow$ 9)-5- <i>epi</i> - KDN <b>277</b> <i>p/f</i> 65:35 $\alpha$ Glc(1 $\rightarrow$ 7)-KDN <b>279</b> -
	<i>epi</i> -Lactose <b>224</b>		$\alpha$ Gal(1 $\rightarrow$ 7)-KDN <b>280</b> -

- kein Umsatz. <sup>1)</sup> isolierte Ausbeute. *p* - pyranoider Struktur. *f* - furanoider Struktur



**Tabelle 23:** Substrattoleranz der *N*-Acetylneuraminsäure-Aldolase gegen Triazol-haltige Mannosederivate

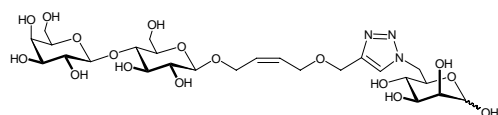
Donor	Sialinsäure	Ausbeute (%)
 <p><b>228</b></p>	 <p><b>281</b></p>	98
 <p><b>229</b></p>	 <p><b>282</b></p>	97
 <p><b>230</b></p>	 <p><b>283</b></p>	52
 <p><b>234</b></p>	 <p><b>284</b></p>	78
 <p><b>235</b></p>	 <p><b>285</b></p>	63



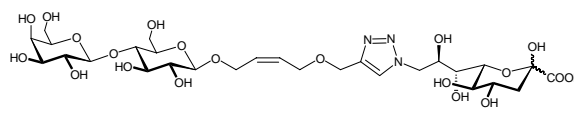
286

80

236



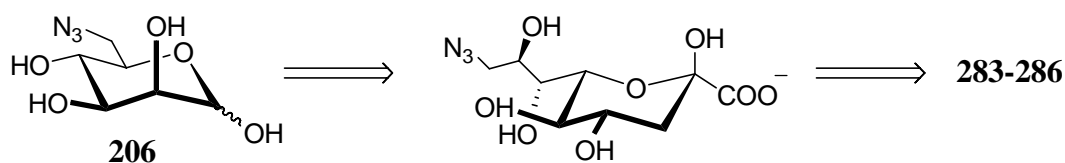
240



287

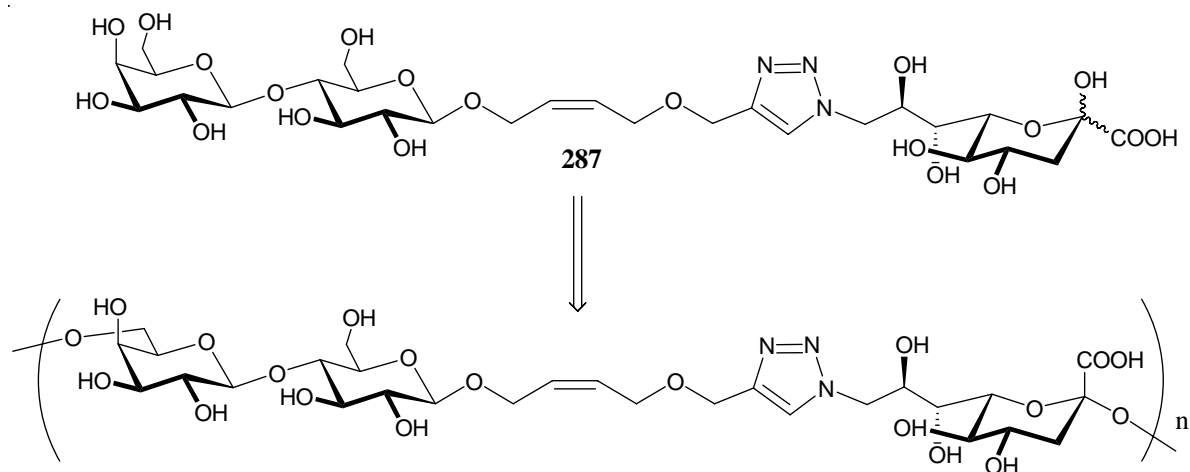
25

**Tabelle 23** fasst die Ergebnisse der enzymatischen Umsetzungen von über Triazol-verknüpfte Mannose-Derivate zusammen. Hierbei konnte mit der Serie **283-286** in guten Ausbeuten unter anderem eindrucksvoll die Synthese neuartiger pseudo-oligo-KDN-Derivate gezeigt werden. Trotz des notwendigen hohen Pyruvatüberschusses gelang es relativ problemlos, die gewünschten Produkte über Anionentauscher aufzureinigen und diese anschließend als reine Lyophilisate zu erhalten. Die Charakterisierung mittels  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Analyse erfolgte ausgehend von **284** über **285** zum **286** mittels der Integralverhältnisse der in Nachbarposition zum quartären C-Atom befindlichen Methylen-Protonen bzw. der Anzahl der C-Signale in Abhängigkeit der Symmetrie. Bei einer alternativen Synthese solcher Dendrimere wäre auch die Route zu testen, bei der ausgehend von 6-Azido-mannose in einer NeuA-katalysierten Reaktion zuerst das 9-Azido-KDN bereitgestellt wird, um anschließend mit einem symmetrischen Alkin in einer [3+2]-Cycloaddition zum Di-, Tri- oder Tetramer abzureagieren. Im Rahmen dieser Arbeit wurde letztere Option allerdings noch nicht genutzt.



**Abb. 82:** Alternative Route zur Synthese von Di-, Tri- oder Tetrameren

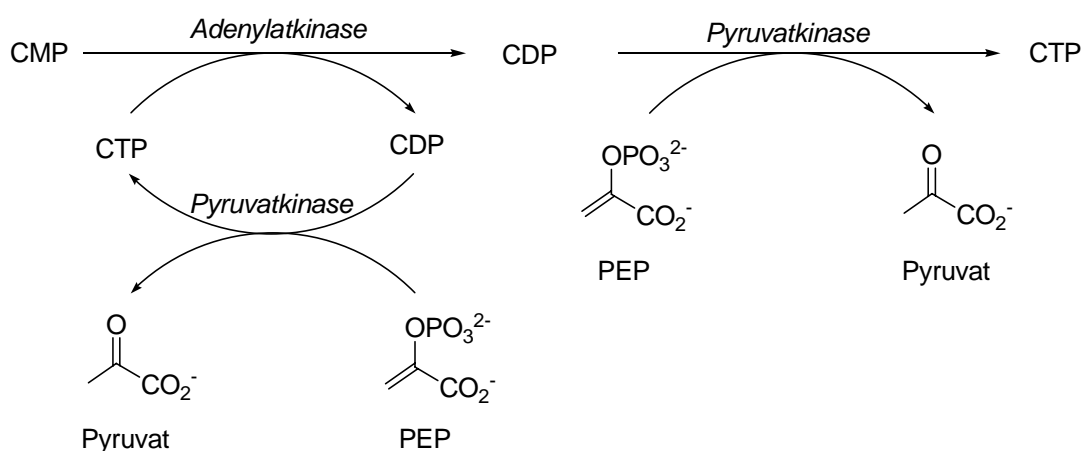
Ein interessanter Kandidat für eine Polymerisation scheint das Monomer **287** zu sein. Eine erfolgreiche Aktivierung zum CMP-Konjugat und anschließende Weiterreaktion durch Katalyse einer Sialyltransferase könnte das entsprechende lineare Polymer liefern.



**Abb. 83:** Mögliche Oligomerbildung mit **287**

### 3.4.8 Enzymatische Synthesen mit der CMP-NeuAc Synthetase aus *N. meningitidis*

Die enzymatische Synthese der nucleotidaktivierten CMP-*N*-Acetylneuraminsäure aus CTP und Neu5Ac mit der CMP-Sialat-Synthetase ist gut dokumentiert<sup>[146-148, 259, 272, 289-291, 347-349]</sup>. Das relativ teure CTP kann in in Grammaßstab in situ mit der Adenylat-Kinase und Pyruvat-Kinase gebildet werden<sup>[109, 280, 350]</sup>. Hierbei katalysiert die Adenylat-Kinase die Äquilibrierung von CTP und CMP zu CDP, das wiederum durch die Pyruvat-Kinase mit PEP als Phosphatdonor zu CTP phosphoryliert wird (**Abb. 85**)<sup>[259, 347, 351]</sup>.



**Abb. 84:** Enzymatische Synthese von CTP

Bei den CMP-Neu5Ac-Synthetase-katalysierten Reaktionen zur Herstellung von CMP-aktivierten Sialinsäure-Analoga wurde von den unabhängig hergestellten Sialinsäure-Derivaten und enzymatisch präparierten CTP ausgegangen.

Entscheidend für die Aktivität der Synthetase ist hierbei die Anwesenheit von zweiwertigen Metallsalzen wie  $\text{Mg}^{2+}$  oder  $\text{Mn}^{2+}$ , sowie der Einsatz von Antioxidantien wie Dithiothreitol, Mercaptoethanol oder Cystein (vorzugsweise 0.2 mM Dithiothreitol). Der pH-Wert muß für die Reaktionsdauer annähernd konstant gehalten werden (50 mM Tris-HCl, pH 8.5), damit die bei schwach saurem pH-Wert (5.0 bis 6.9) verstärkte Hydrolyse des gebildeten CMP-Konjugats wird.

Das bei der Reaktion freigesetzte Pyrophosphat kann als Inhibitor der Synthase wirken und muß daher durch Zusatz einer Pyrophosphatase zu Phosphat abgebaut werden. In Gegenwart des  $\text{Mg}^{2+}$ -Cofaktors wird letzteres allerdings teilweise als schwerlösliches Magnesium-Ammonium-Salz gefällt und so aus den Reaktionsmedium entfernt. Es muß daher darauf

geachtet werden, dass eine ausreichende  $\text{Mg}^{2+}$ -Konzentration während des gesamten Reaktionsverlaufs aufrechterhalten wird.

Auf diese Weise wurden die synthetisierten Neuraminsäurederivate präparativ im 0.8-3.5 mmol-Maßstab zu den entsprechenden CMP-Konjugaten aktiviert. (**Tabelle 24**).

**Tabelle 24:** Enzymatisch synthetisierte CMP-Sialinsäure-Derivate

<b>Edukt</b>	<b>Produkt</b>	<b>Ausbeute (%)</b>
Neu5Ac <b>241</b>	CMP-Neu5Ac <b>289</b>	84
Neu5Prop <b>242</b>	CMP-Neu5Prop <b>290</b>	77
Neu5But <b>243</b>	CMP-Neu5But <b>291</b>	77
Neu5Crot <b>244</b>	CMP-Neu5Crot <b>292</b>	83
Neu5Pent <b>245</b>	CMP-Neu5Pent <b>293</b>	87
Neu5Gc <b>249</b>	CMP-Neu5Gc <b>294</b>	++
Neu5AcCl <b>250</b>	CMP-Neu5AcCl <b>295</b>	++

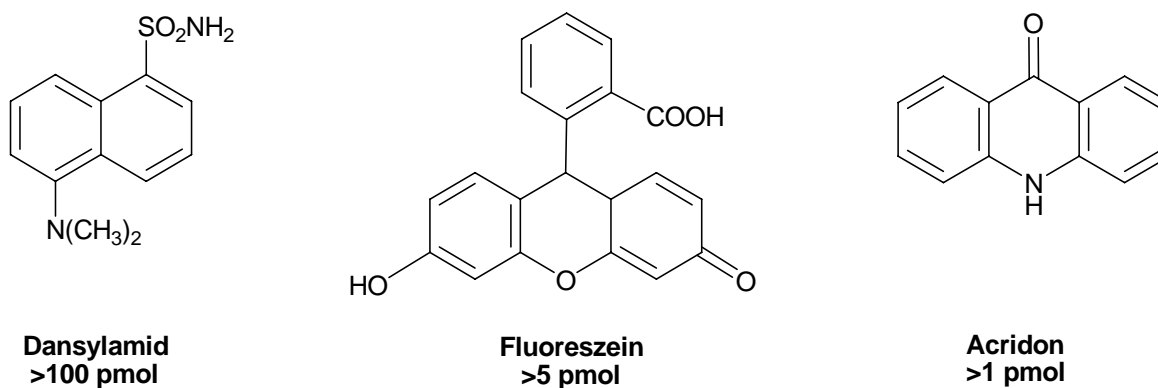
++ Substrate nach 3-5 h vollständig umgesetzt, jedoch nicht isoliert

Hierbei zeigte sich, dass die Sialinsäure-Derivate **241-245** sowie **249-250** sehr gute Substrate für die Synthetase sind und die entsprechenden aktivierten Spezies ohne Probleme in bis zu Gramm-Mengen präparativ zugänglich sind. Die Produkte konnten durch fraktionierte Fällung mit Ethanol und anschließende Größenausschußchromatographie an BioGel P-2 fine weitgehend von Puffersalzen und sonstigen Nebenprodukten befreit und anschließend durch  $^1\text{H}$ -NMR- und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Analyse charakterisiert werden.

### 3.4.9 Synthese fluoreszenzmarkierter Sialinsäure-haltiger Trisaccharide

#### 3.4.9.1 Chemoenzymatische Synthese von Akzeptorsubstraten

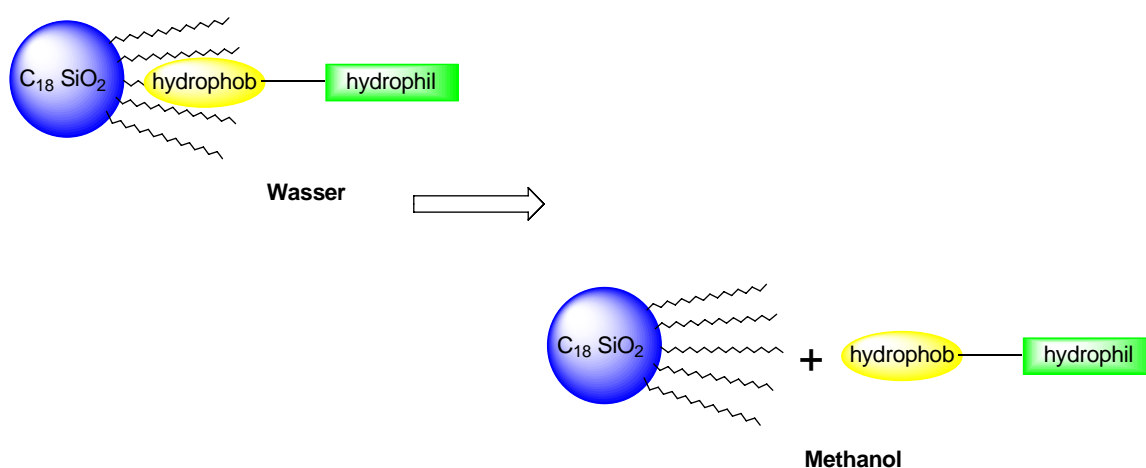
Die Reaktionskontrolle beim enzymatisch katalysierten Aufbau von Oligosacchariden gestaltet sich oft schwierig. Wichtig ist somit beim Einsatz wertvoller Substanzen und Enzyme eine leicht detektierbare Reaktionsverfolgung der Produktbildung. Um daher bei weiteren Synthesen die NMR-Charakterisierung von höheren Oligosacchariden zu vereinfachen, war der Einsatz von Akzeptorsubstraten mit einheitlicher anomerer Konfiguration geboten. Neben dem Einsatz von  $\beta$ -Allylglycosiden<sup>[79,352]</sup> oder  $\beta$ -Octylglycosiden<sup>[360]</sup> finden auch Sialylakzeptoren wie  $\beta$ -Azido- oder konjugationsfähige  $\beta$ -3-Azidopropylglycoside Verwendung<sup>[147,148]</sup>. Um jedoch eine hoch empfindliche Reaktionskontrolle von Sialylierungsreaktionen zu ermöglichen, wurden besonders vorteilhaft verschiedene mit einem Fluoreszenzchromophor markierte Akzeptorverbindungen eingeführt. Erste an Fluorescein gekoppelte Verbindungen erwiesen sich als chemisch zu wenig stabil und aufwendig in ihrer Herstellung<sup>[354]</sup>. *Hindsgaul* und *Dovich* setzten Tetramethylrhodamin als hochsensitiven Marker bei der Untersuchung enzymatischer Reaktionen ein<sup>[355-357]</sup>. Aktuelle Untersuchungen schlagen die Synthese von Dansyl-substituierten Zuckerbausteinen für enzymatische Reaktionen vor<sup>[358]</sup>. Nachdem Acridon als Fluoreszenzchromophor beim Screening von katalytischen Antikörpern erfolgreich getestet wurde<sup>[359]</sup> und in weiteren Untersuchungen zum Aufbau fluoreszenzmarkierter Akzeptorsubstrate<sup>[111]</sup> und in der Festphasensynthese<sup>[149,150]</sup> überzeugend genutzt werden konnte, schien es als Marker auch für die geplanten eigenen Synthesevorhaben zu sein. Als Vorteil zu werten sind seine hohe chemische und photochemische Stabilität und vor allem eine Nachweisgrenze von 1 pmol/L (254 nm), die deutlich unter der von Dansylamid (>100 pmol) und Fluorescein (>5 pmol) liegt.



**Abb. 85:** Fluoreszenzmarker und ihre Nachweisgrenzen

Im Rahmen der geplanten Synthesen mussten zuerst auf chemischen Weg einheitlich konfigurierte, an den Fluoreszenzchromophor gekoppelten GlcNAc- bzw. Lactosylglycoside synthetisiert werden. Im Falle des GlcNAc-glycosids sollte in einer anschließenden Galactosyltransferase-katalysierten Reaktion präparativ das LacNAc-Derivat generiert werden. Da der Fluoreszenz-Marker über einen Spacer an den Zucker angebunden werden sollte, um eine ausreichende sterische Flexibilität zu gewährleisten, war eine Beeinflussung der enzymatischen Glycosylierungsreaktion durch das Aglycon nicht zu befürchten.

Ein weiterer Vorteil von Acridon sind seine hydrophoben Eigenschaften, die die Immobilisierung von daran gekoppelten Substraten an RP-C<sub>18</sub>-Kieselgel über *van-der-Waals*-Kräfte ermöglichen<sup>[150]</sup>. Zur Isolierung können die am Kieselgel anhaftenden Produkte durch einfache Filtration und Nachspülen mit Wasser von Puffersalzen, Reagenzien, Enzymen und überschüssigem Edukt abgetrennt und anschließend durch Elution mit einem polaren organischen Solvenz wie Methanol in reiner Form isoliert werden.

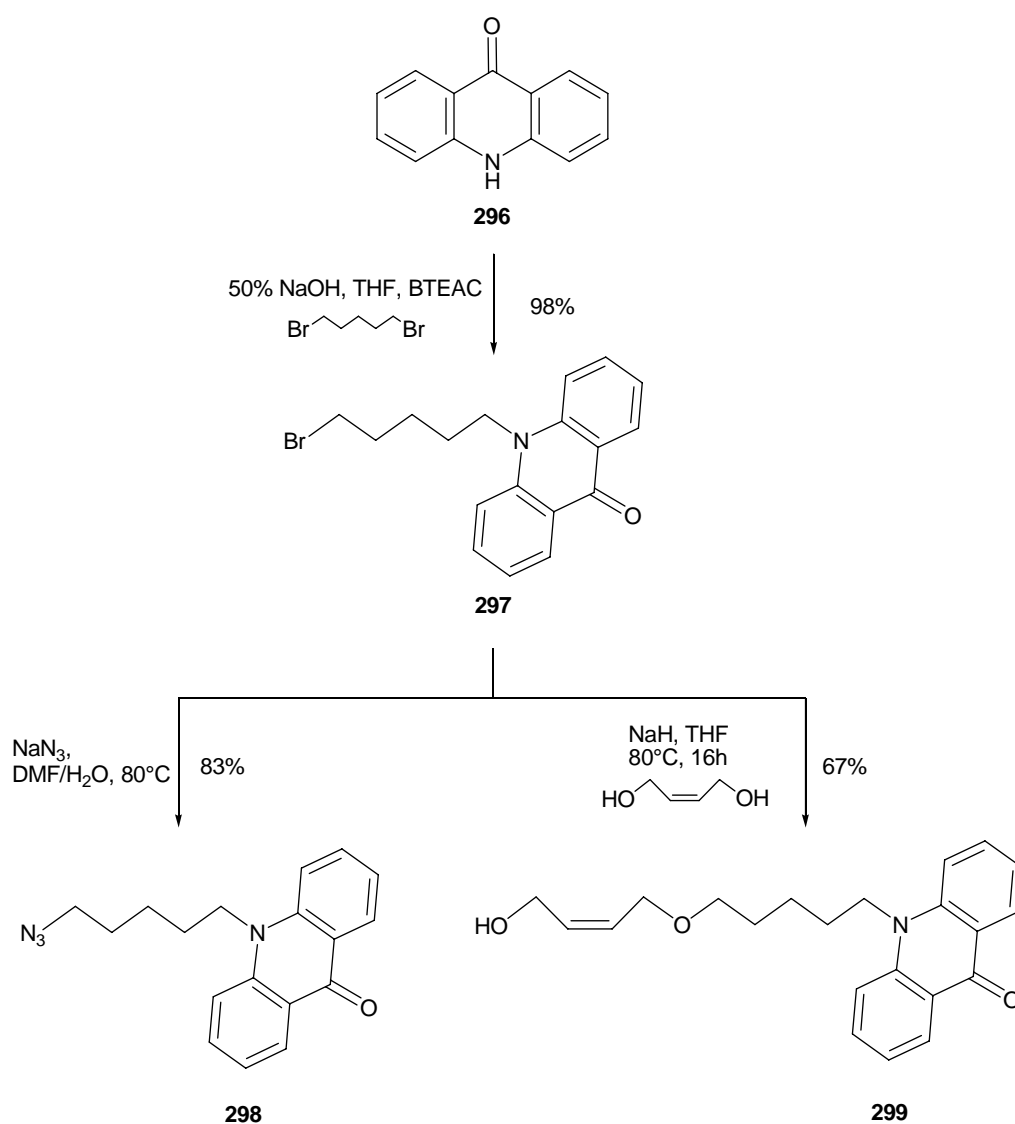


**Abb. 86:** Reversible hydrophobe Adsorption

Im Rahmen der Syntheseplanung sollten bei der Wahl des Spacers folgende Funktionalitäten berücksichtigt werden: zum einen eine Doppelbindung, die mittels Ozonolyse gespalten werden kann, um den daraus generierten Aldehyd-funktionalisierten Zucker an verschiedene Träger wie z. B. Proteine übertragen zu können, was einen eleganten Zugang zu neuen Sialokonjugaten verspricht. Zum anderen sollte durch die Verknüpfung über ein Triazol eine flexible Kombination verschiedener Bausteine mit dem Acridon-Label mittels einer effizienten Konjugationsreaktion erreicht werden, möglichst ohne aufwendige Schutzgruppenmanipulationen.

### 3.4.9.2 Synthese Acridon-gekoppelter Linkermoleküle

Für die Anknüpfung des Acridons, das preiswert in größerem Maßstab hergestellt werden kann<sup>[360]</sup>, an einen Zucker wurde der bereits im Arbeitskreis bewährte Pentyl-Spacer eingesetzt. Für die *N*-Alkylierung von Acridon waren zwei Wege ausgearbeitet worden, einmal durch die Deprotonierung mittels NaH in DMF<sup>[361]</sup> und anschließender Alkylierung bei 80°C oder durch Alkylierung unter Phasentransferbedingungen in 50%iger NaOH<sup>[149]</sup>. Da die erste Variante überwiegend bei basenlabilen Substraten zum Einsatz kommt, wurde die Alkylierung als Phasentransferreaktion durchgeführt.



**Abb. 87:** Synthese Acridon-gekoppelter Linkermoleküle

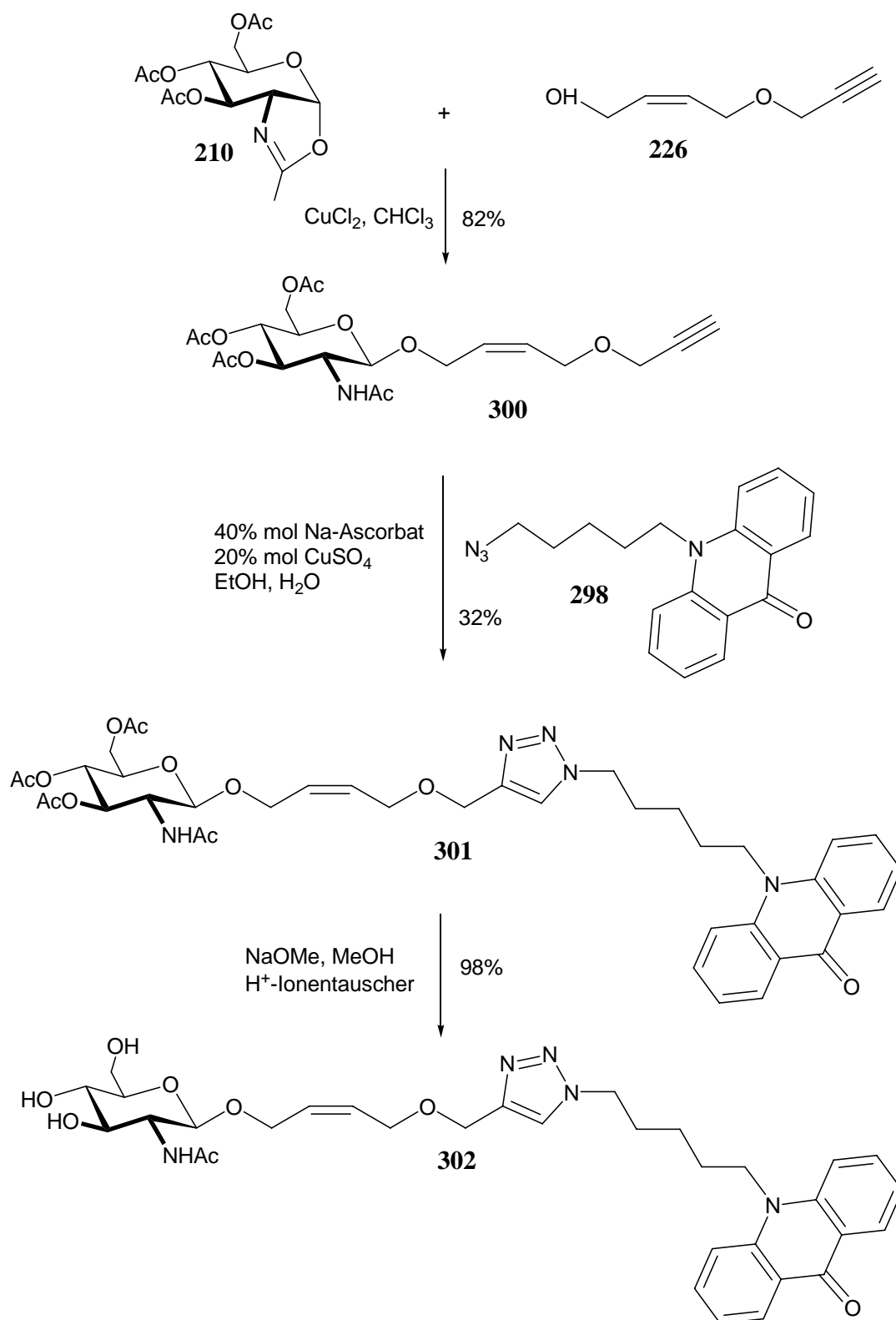


Die Synthese des Bromids **297** gelang hierbei in hervorragender Ausbeute von 98%. Geringere Verunreinigungen durch Dibrompentan sind zu vernachlässigen, da diese im Verlauf der nächsten Synthesestufe abgetrennt werden können. Azidsubstitution zu **298** für die Synthese Triazol-haltiger Linkermoleküle gelingt in guter Ausbeute von 83%. Für die Herstellung von Linkermolekülen ohne Triazol-Baustein wurde das entsprechende Bromid **297** mittels einer Williams'schen Ethersynthese unter wasserfreien Bedingungen in guten Ausbeuten zum Aglycon **299** konvertiert.

#### 3.4.9.3 Synthese Triazol-haltiger Akzeptoren

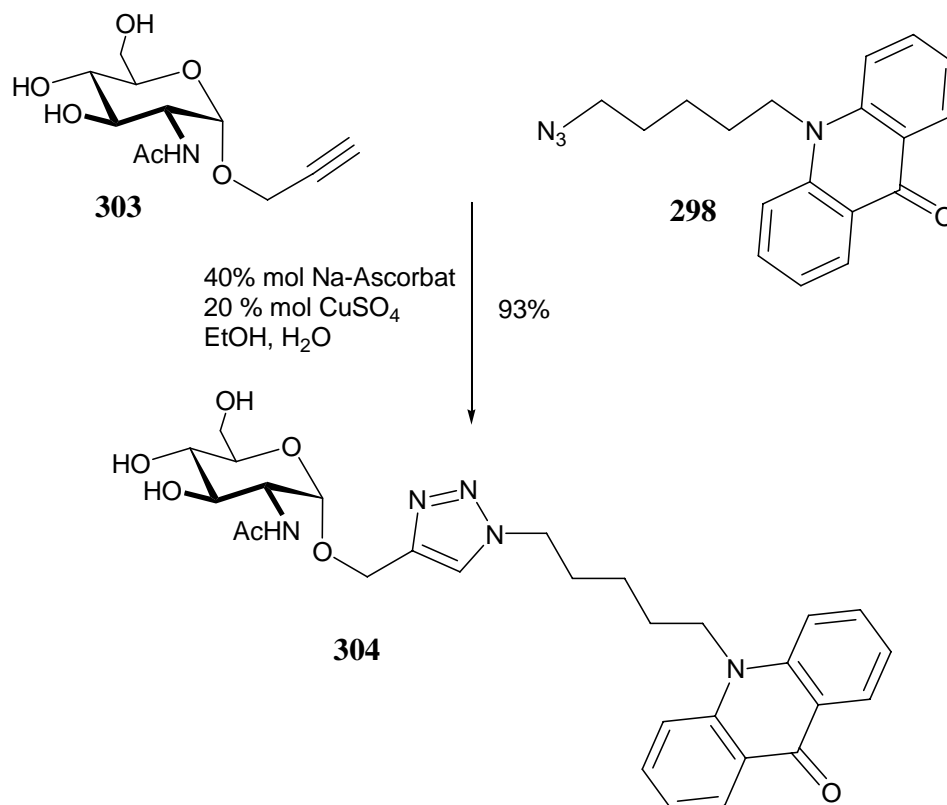
Die Koenigs-Knorr-Synthese ist eine der bekanntesten Methoden zur Synthese von  $\beta$ -Glycosiden. Hierbei findet die Helferich-Variante unter Einsatz von Quecksilbersalzen als Promotoren auch heute noch breite Anwendung. Der Glycosyl-Donor wird dabei als Acylgeschützte Halogenose in Gegenwart des unlöslichen Schwermetallsalzes mit einem Alkohol als Glycosylakzeptor umgesetzt.

Für die geplante Reaktion mit der Galactosyltransferase wurden die entsprechenden *N*-Acetylglycosamide als Akzeptoren benötigt. Ausgehend vom Oxazolin **210** bietet die  $\text{CuCl}_2$ -katalysierte Reaktion jedoch eine effektivere Variante gegenüber der Helferich-Reaktion. Unter anderem kann so auf die giftigen Hg-Salze verzichtet werden. Das entsprechende Glycosid **300** konnte in guter Ausbeute erhalten und die Synthese des fluoreszenzmarkierten Glycosids **302** mittels einer [3+2]-Cycloaddition unter Generierung des Triazols und anschließender Entfernung der Schutzgruppen vervollständigt werden (**Abb. 88**).



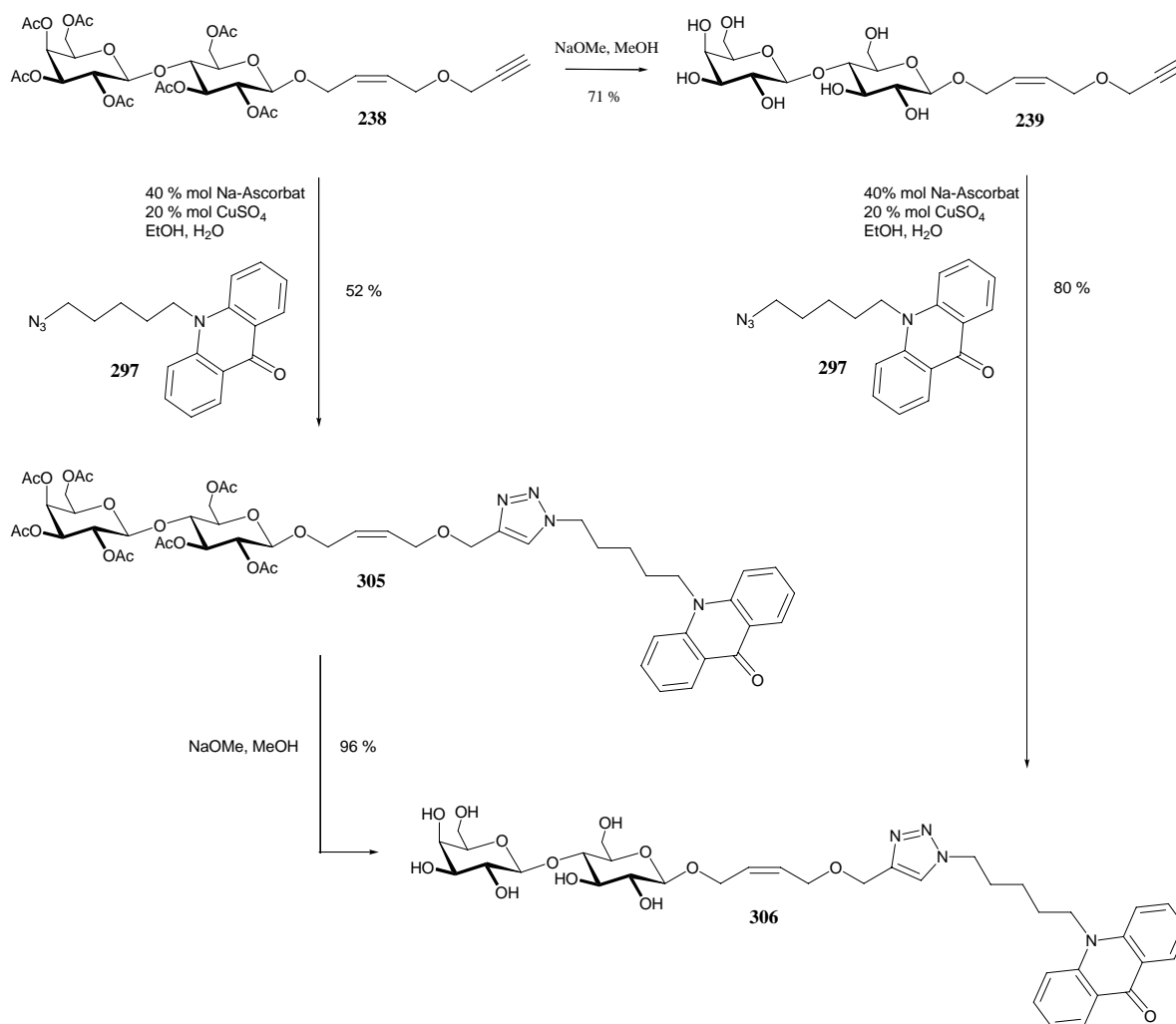
**Abb. 88:** Kupplung des  $\beta$ -verknüpften Allylglycosids **301** und des Acridon-ankers **298**

Die Synthese des nicht spaltbaren  $\alpha$ -Glycosids **304** konnte direkt aus dem ungeschützten  $\alpha$ -Propargyl-GlcNAc **303** (aus Bestand von Dr. Porzelle) erfolgen (**Abb. 89**). In beiden Kupplungs-Reaktionen durch  $\text{Cu}^{\text{I}}$ -vermittelte [3+2]-Cycloadditionen war die Isolierung über den hydrophoben Acridon-Anker vorteilhaft, aber nur die schutzgruppenfreie Reaktion lieferte eine gute Ausbeute. Die Kupplung des geschützten Glycosids **300** mit **298** in lediglich 32% Ausbeute könnte mit dem Verlust von Acetat-Schutzgruppen und den damit nicht mehr einheitlichen Produkt verbunden sein.



**Abb. 89:** Kupplung des  $\alpha$ -verknüpften Propargylglycosids **303** und des Acridonankers **298**

Zur Herstellung der Acridon-gekoppelten Lactoside wurde ausgehend vom geschützten Lactosid **238** über eine [3+2]-Cycloaddition und anschließender Entfernung der Acetyl-Schutzgruppen das gewünschte Produkt **306** mit spaltbarem Linker erhalten, bei einer Ausbeute von 50% über 2 Stufen. Parallel dazu konnte in umgekehrter Reihenfolge ausgehend von der ungeschützten Verbindung **239**, erhältlich durch einfache Entschützung von **238**, das entsprechende Lactosid **306** in einer etwas höheren Ausbeute von 57% über ebenfalls 2 Stufen generiert werden (**Abb. 90**).



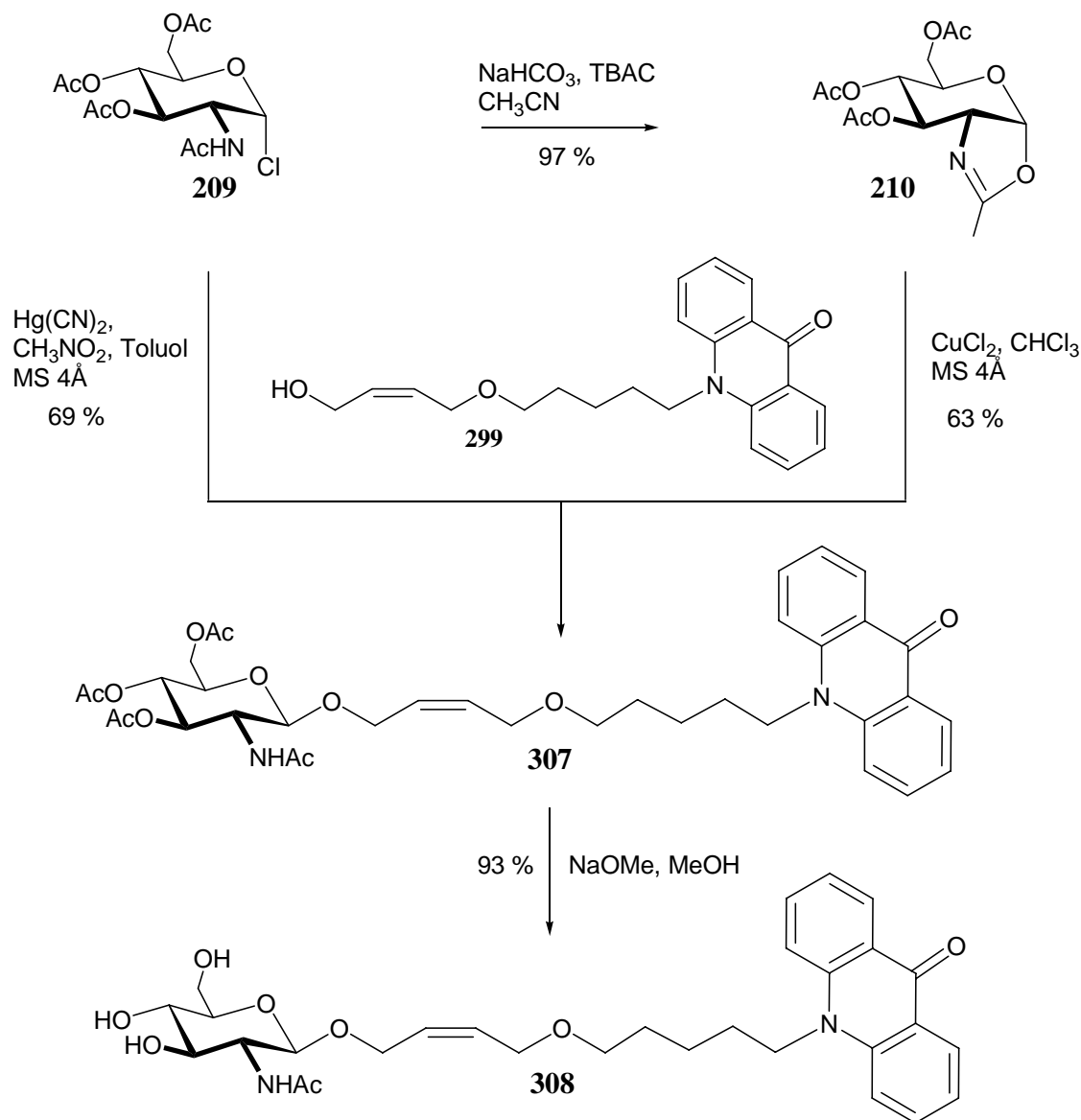
**Abb. 90:** Kupplung des  $\beta$ -verknüpften Allylglycosids **238** bzw. **239** und des Acridon-ankers **298**

#### 3.4.9.4 Synthese Triazol-freier Akzeptoren

Die Synthese des direkt Acridon-gekoppelten GlcNAc-Derivats **308** wurde entsprechend nach der bereits vorteilhaft eingesetzten Cu-katalysierten Methode ausgehend vom Oxazolin **210** durchgeführt. Obzwar das Intermediat **307** auch mit dem Acetochlorglucosamin **209** nach der Helferich-Variante erfolgreich herzustellen war (sogar in einer etwas höherer Ausbeute), ist die erste Methode wegen der milderen Reaktionsbedingungen und dem Verzicht auf große Mengen an Hg-Salzen zu bevorzugen (**Abb. 91**).

Darüber hinaus konnte in einer Versuchsreihe gezeigt werden, dass bei der Reaktion von Oxazolin **210** und Linkeralkohol **299** mit einem Verhältnis von 4:1 das wetvolle Aglycon

vollständig umgesetzt wird. Aufgrund der höheren Wertschöpfungsverhältnisse ist ein solcher Überschuss der Donorkomponente zu rechtfertigen, weil diese bei der chromatographischen Aufreinigung zu großen Teile wieder zurückgewonnen werden kann.

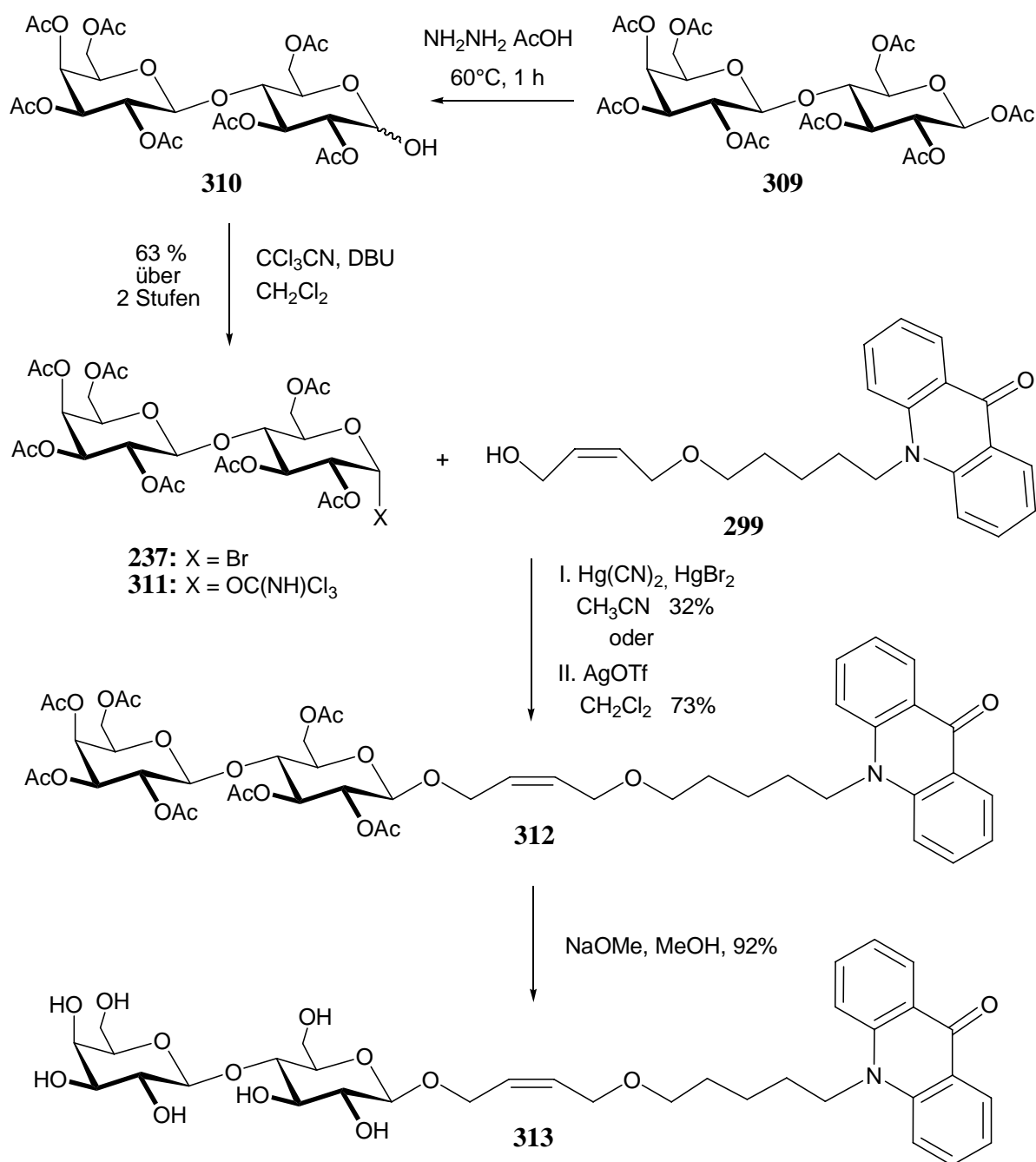


**Abb. 91:** Synthese des  $\beta$ -verknüpften Acridon-gekoppelten Akzeptormoleküls **308**

Überraschenderweise verlief die analoge Verknüpfung des Acridonalkohols **299** mit der Acetobromlactose **237** nach der Helferich-Methode deutlich schlechter. Trotz der Variation der Reaktionsparameter katalytischer Menge an Quecksilberbromid, Geschwindigkeit beim Zutropfen der Zuckerlösung, Reaktionsdauer, gelang es nach direkter Entschüttung des Rohprodukts zum gesuchten **313** dieses nur in 15% Gesamtausbeute zu isolieren. Als Ursache für das unbefriedigende Ergebnis ist zum einem die Labilität der Acetobromlactose gegen

eine mögliche Eliminierung zum Glycal sowie eine hohe Tendenz für einen Acyltransfer auf den Alkohol zu sehen. Obwohl aus dem Veresterungsprodukt der Alkohol **299** problemlos recycliert werden kann, steht der Aufwand in keinem Verhältnis zu den damit erhältlichen Menge an **313**.

Alternativ zur Koenigs-Knorr-Synthese bot sich die Trichloracetimidat-Methode nach *Schmidt et al.* an, die heute zu den erfolgreichsten und am häufigsten angewendeten Glycosidierungsmethoden zählt<sup>[362]</sup>. Hierbei wird die entsprechende Zuckerkomponente als Glycosyltrichloracetimidat mit einer mild aktivierbaren Abgangsgruppe derivatisiert.



**Abb. 92:** Synthese des  $\beta$ -verknüpften Acridon-gekoppelten Akzeptor-moleküls **313**

Bei den *O*-Glycosyl-trichloracetimidaten handelt es sich häufig um stabile, kristallisierbare Verbindungen, die sich durch eine Reihe von elektrophilen Promotoren wie  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ , TMSOTf oder  $\text{ZnBr}_2$  in inerten Lösemitteln wie  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  bei tiefen Temperaturen ( $-20^\circ\text{C}$  bis  $-80^\circ\text{C}$ ) erstaunlich ertragreich zur stereoselektiven Glycosidierungen der verschiedenartigsten Alkoholen eignen.

Ausgehend von Octaacetyllactose **309**, die mit Hydrazinacetat als Standardreagenz<sup>[363]</sup> selektiv an der anomeren Position zur entsprechenden 1-Hydroxyl-acetyllactose **310** entschützt wird, konnte ohne weitere Aufreinigung das Trichloracetimidat **311** in einer Gesamtausbeute von 63% erhalten werden. Die abschließende Kupplung mit dem Acridonalkohol **299** erfolgte unter milder Katalyse von AgOTf bei Raumtemperatur zum Lactosid **312**, woraus abschließend unter Zemplén-Bedingungen das ungeschützte Lactosid **313** in guter Gesamtausbeute generiert wurde.

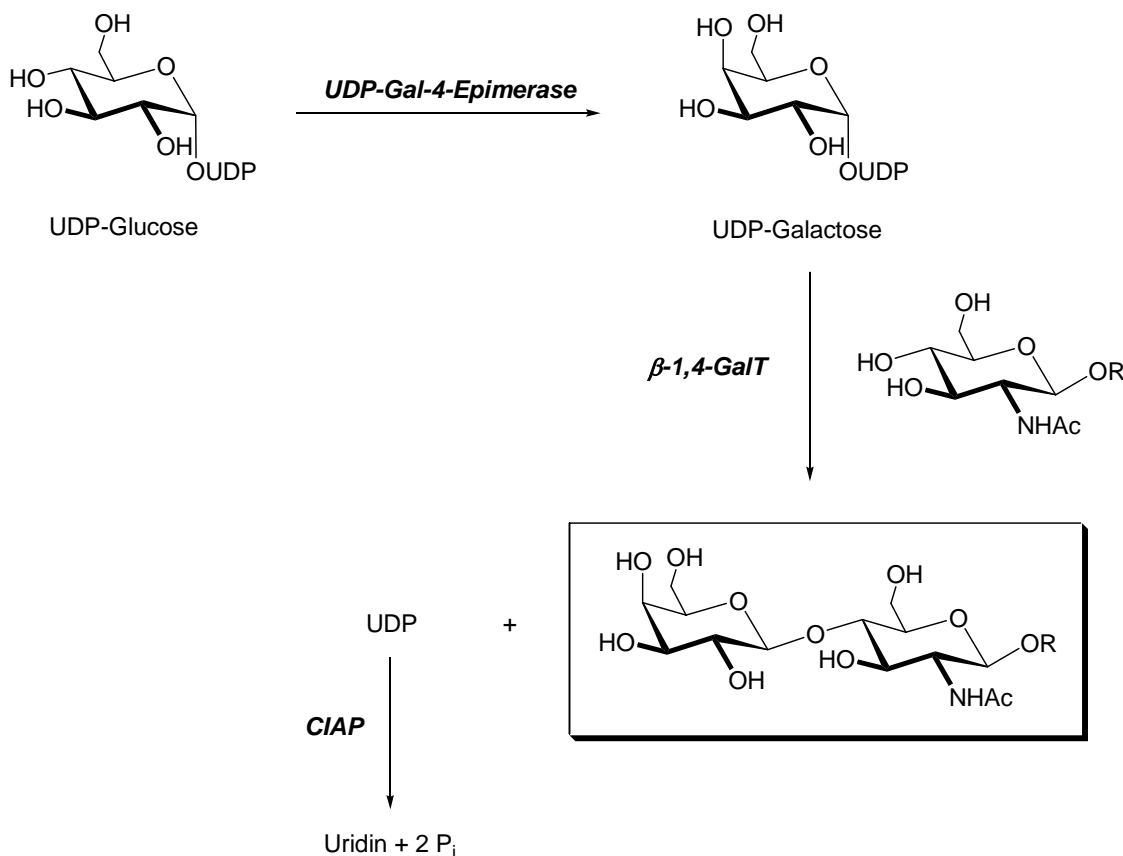
### 3.4.10 Enzymatischer Galactosyltransfer

Galactosyltransferasen gehören zu den variantenreichsten Vertretern der Enzymklasse der Glycosyltransferasen. Galactosyltransferasen binden UDP-Galactose als Donorsubstrat und übertragen es auf Akzeptorsubstrate wie Glycoproteine, Glycosaminglycane, Glycolipide und sogar auf einige kleine lipophile Moleküle wie z. B. Pflanzenhormone<sup>[364]</sup>. Hierbei werden hoch regio- und stereospezifische glycosidische Bindungen generiert. Die  $\beta$ -1,4-Galactosyltransferase ist im Hinblick auf ihre synthetische Verwendbarkeit und ihre Substratspezifität eines der am besten untersuchten Glycosyltransferasen<sup>[365-369]</sup>. Das aus Kuhmilch isolierte kommerziell erhältliche Enzym katalysiert den  $\beta$ -selektiven Galactosyltransfer von UDP-Galactose auf die 4-Position eines *N*-Acetylglucosamin-Restes unter Bildung der Gal- $\beta$ -1,4-GlcNAc-Partialstruktur. Letztere, auch als *N*-Acetyllactosamin (LacNAc) bekannt, taucht als terminale Sequenz in einer Reihe von *N*-verknüpften Oligosacchariden auf<sup>[370]</sup>. Der GlcNAc-Rest ist dabei gewöhnlich durch eine  $\beta$ -*N*-glycosidische Bindung mit der Amidgruppe eines Asparaginrests verbunden.

Bezüglich der Substratspezifität konnte gezeigt werden, dass das Enzym neben der *in vitro*-Synthese von LacNAc und der Herstellung weiterer Galactoside<sup>[365-366, 3768, 371]</sup>, in Gegenwart von  $\alpha$ -Lactalbumin auch die Umsetzung von Glucose (und Glycosiden) zu Lactose katalysiert<sup>[372]</sup>. Als Donorsubstrat wird nicht nur UDP-Galactose, sondern – mit geringer

Umsatzrate - auch Glucose, Arabinose, Glucosamin, *N*-Acetylgalactosamin und 4-Desoxyglucose in Form ihrer UDP-aktivierten Derivate akzeptiert. Somit lassen sich  $\beta$ -1,4-verknüpfte Oligosaccharide herstellen, deren Terminus nicht der Galactose-Einheit entspricht<sup>[373]</sup>.

Das bei der Galactosyltransferase-katalysierten Reaktion benötigte teure UDP-Gal kann durch eine vorgeschaltete Reaktion aus der preisgünstigeren UDP-Glucose mittels einer UDP-Galactose-4-epimerase generiert werden. Zwar liegt das Gleichgewicht bei dieser *in situ*-Herstellung des Nucleotidzuckers auf der Seite des Edukts, durch den ständigen Verbrauch an UDP-Galactose im nachfolgendem Transferschritt wird jedoch im Verlauf der Reaktion die UDP-Glucose quantitativ verbraucht<sup>[374]</sup>. Aufgrund der leichten Hydrolysierbarkeit der UDP-Galactose in Anwesenheit von Metallionen bei alkalischem pH-Wert ist darauf zu achten, dass keine allzu hohe  $Mn^{2+}$ -Konzentration vorliegt und der pH-Wert möglichst bei 7.4-7.8 gehalten werden kann<sup>[375]</sup>.

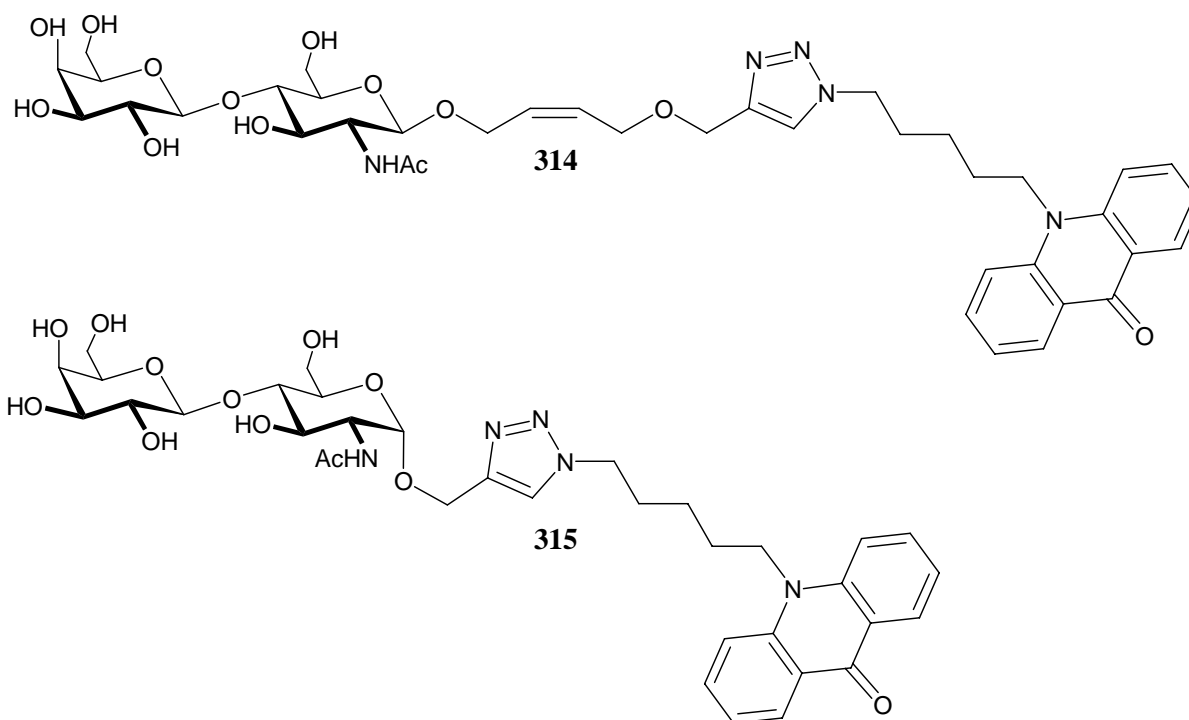


**Abb. 93:** Enzymatische Galactosylierung



Durch Zugabe alkalischer Phosphatase (CIAP) kann die Inhibition der Galactosyltransferase durch das bei der Reaktion entstehende Nucleotid UDP verhindert werden<sup>[370,374]</sup>. Hierbei wird UDP zu Uridin und anorganischem Phosphat abgebaut, die sich durch Größenausschlusschromatographie an Bio-Gel P2 vom gebildeten Glycokonjugat abtrennen lassen.

Nach dem in **Abb. 93** dargestellten Syntheseprinzip wurden die GlcNAc-Acridon-Konjugate **301** und **303** zu den entsprechenden LacNAc-Derivaten **314** und **315** umgesetzt. Aufgrund der schlechten Wasserlöslichkeit wurde das Ausgangsglycosid zuerst in einer adäquaten Menge DMSO gelöst und dann zur wässrigen Pufferlösung zugegeben, so dass eine Endkonzentration an organischem Cosolvenz von ca. 30% resultierte. Während der Reaktion bildete sich allmählich eine hochviskose Phase aus, die anfangs vermuten ließ, dass die Reaktion aufgrund der schlechten Durchmischbarkeit des Reaktionsmediums an Umsatzgeschwindigkeit einbüße könnte und so war es umso überraschender, nach Verdünnung mittels DC-Kontrolle feststellen zu können, dass die eingesetzten fluoreszenzmarkierten Edukte vollständig verbraucht waren. Zur Aufreinigung dieser an eine große lipophile Gruppe gebundenen Disaccharide **314** und **315** hat sich die Chromatographie an RP-Kieselgel bewährt<sup>[376]</sup>. Auf diese Weise ließen sich auch im vorliegenden Fall die Puffersalze, DMSO, Uridin, Enzym und andere wasserlösliche Verunreinigungen durch einfaches Spülen mit Wasser praktisch vollständig entfernen, bevor das über seinen hydrophoben Anker an das Säulenmaterial gebundene Produkt durch Elution mit Methanol in sehr reiner Form erhalten werden konnte. Die in guten Ausbeuten von 61% erhaltenen Produkte wurden mittels <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR in Korrelation mit LacNAc als Referenz eindeutig charakterisiert.



**Abb. 94:** Mittels  $\beta$ -1,4-GalT katalysierte Synthese von LacNAc-Glycosiden **314** und **315**

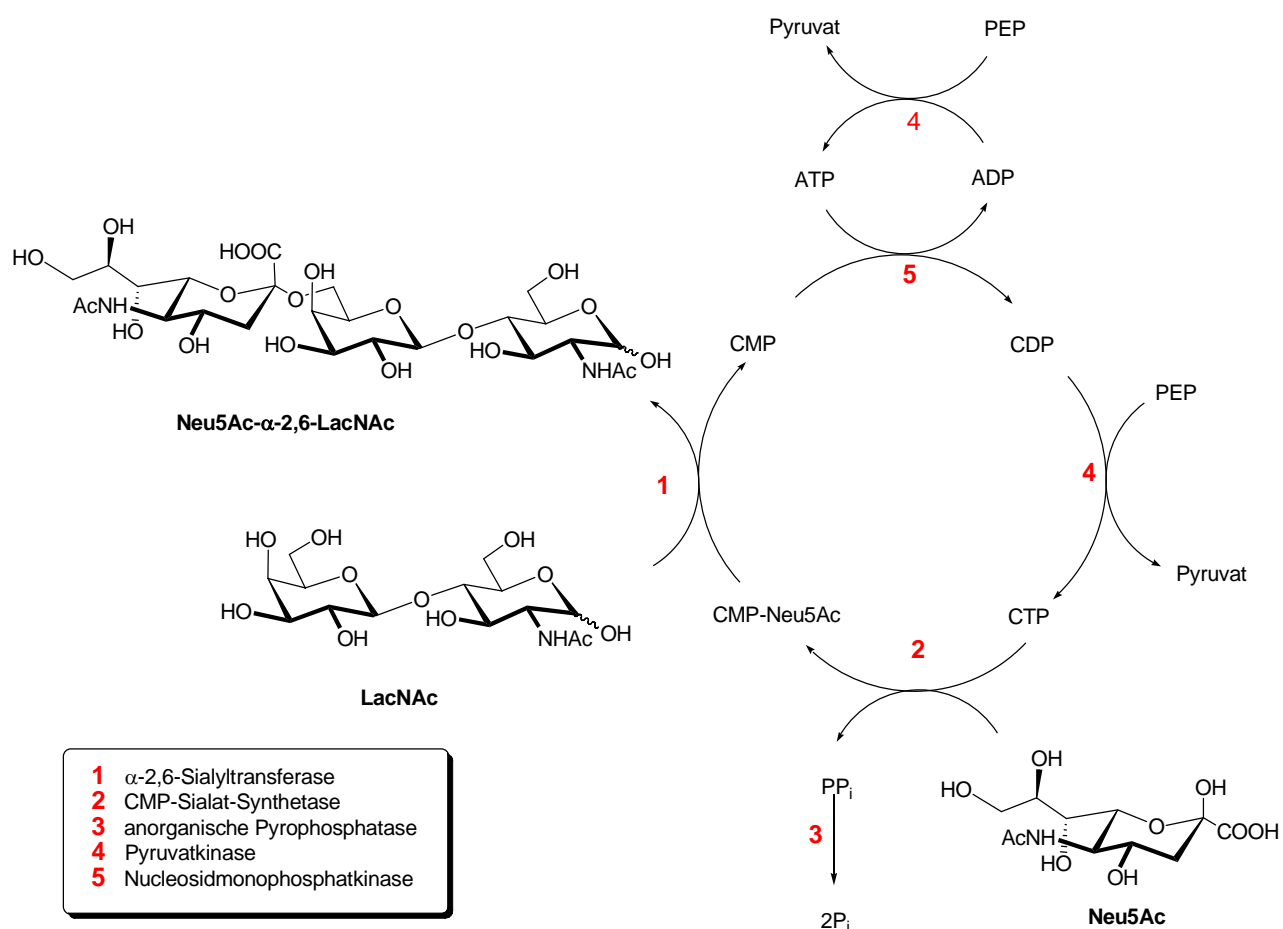
### 3.4.11 Enzymatischer Sialyltransfer

Die Übertragung einer Sialinsäure auf eine geeignete Sialyl-Akzeptorverbindung erfordert den Einsatz von Sialyltransferasen; einzelne Enzyme dieser Gruppe sind kommerziell erhältlich sind (Calbiochem, 0.1 U ca. 250-300 €). Hierbei wird die entsprechende Sialinsäure aus dem CMP-aktivierten Konjugat  $\alpha$ -selektiv auf terminale Galactose-, Lactose-, *N*-Acetylgalactosamin-, *N*-Acetylglucosamin-, *N*-Acetyllactosamin- oder sogar Sialinsäure-Einheiten übertragen. Als geeignete Sialyl-Akzeptorverbindungen kommen somit solche Strukturen in Frage, die eine oder mehrere dieser terminalen Einheiten beinhalten: Monosaccharide, Oligosaccharide, Polysaccharide, Glycopeptide und Glycolipide. Mittlerweile ist eine Vielzahl von Sialyltransferasen charakterisiert worden. So konnten aus Säugerzellen bis jetzt 18 verschiedene Typen von Sialyltransferasen kloniert werden, wie z. B. die mit Sia $\alpha$ 2-6Gal-, Sia $\alpha$ 2-3Gal-, Sia $\alpha$ 2-8Sia- und Sia $\alpha$ 2-6GalNAc-Spezifität, die sich in der Natur der Sialyl-Akzeptorverbindung und der Regiospezifität unterscheiden<sup>[377-378]</sup>. Fünf weitere Sialyltransferase-Klassen wurden in Bakterien nachgewiesen, wie z. B. der  $\alpha$ -2,8(9)-selektiven Polysialyltransferase aus *E. coli* K1/K92 und *N. meningitidis* Gruppe B/C<sup>[379]</sup>, der

$\alpha$ -2,6-spezifischen Sialyltransferase aus dem marinen Bakterium *Photobacterium damsela*<sup>[380]</sup>, der  $\alpha$ -2,3/6-spezifischen Sialyltransferase aus *N. meningitidis* und *N. gonorrhoeae*<sup>[381-382]</sup>, der  $\alpha$ 2-3-Sialyltransferase aus *Haemophilus ducreyi*/*H. influenzae*/*Streptococcus agalactiae*<sup>[383-384]</sup> und der  $\alpha$ -2,3-Sialyltransferase aus *C. jejuni*<sup>[392]</sup>. Für die präparative Oligosaccharidsynthese wurden bisher vorzugsweise  $\alpha$ -2,3- und  $\alpha$ -2,6-Sialyltransferasen eingesetzt<sup>[147-148,374, 386-387]</sup>.

Die enzymatische Herstellung von Sialinsäure-haltigen Glycokonjugaten kann prinzipiell auf zwei Wegen erfolgen, die sich in ihrer stöchiometrischen Vorgehensweise unterscheiden. Nach der diskontinuierlichen Methode wird in einem Schritt zunächst die Sialinsäure enzymatisch unter Verbrauch von CTP aktiviert und das gebildete CMP-Konjugat isoliert, worauf es in einem zweiten Schritt separat mit einer Sialyltransferase und der Sialylakzeptorverbindung zum Sialinsäure-haltigen Sialokonjugat umgesetzt wird<sup>[395-396]</sup>. Eine Inhibierung der Sialyltransferase durch das bei der Umsetzung entstehende CMP wird durch Zugabe von alkalischer Phosphatase vermieden, die die Hydrolyse von CMP zu Cytidin und Phosphat katalysiert<sup>[330,374]</sup>.

Alternativ können für eine kontinuierliche Verfahrensweise die beiden separaten enzymatischen Schritte der CMP-Aktivierung und des Sialyltransfers in Form eines weit aufwändigeren Nucleotid-Regenerierungszyklus miteinander gekoppelt werden. Ausgehend von der entsprechenden Sialinsäure, der Sialyl-Akzeptorverbindung, einer Sialyltransferase, anorganischer Pyrophosphatase, Phosphoenolpyruvat und katalytischen Mengen an CMP und ATP, Pyruvatkinase, Nucleosidmonophosphatkinase sowie der CMP-Sialat-Synthetase wird die Sialinsäure *in situ* CMP-aktiviert und unter kontinuierlicher Regenerierung von CMP auf die Akzeptorverbindung übertragen<sup>[109,370,390-392]</sup>.

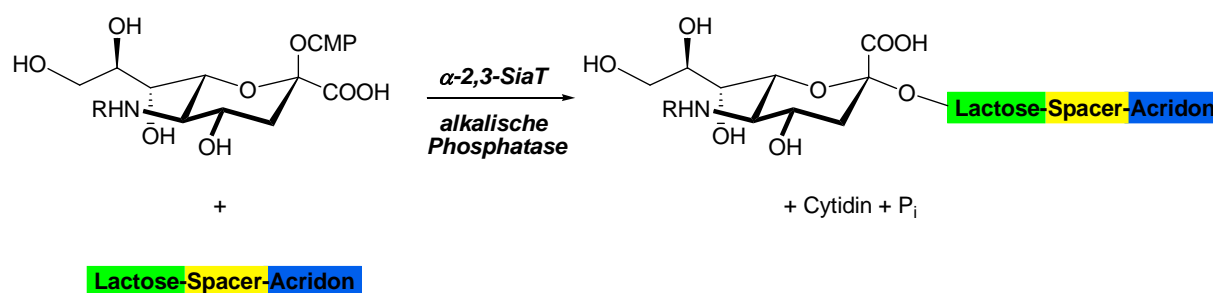


**Abb. 95:** Multienzymatische Synthese von Sialyl-*N*-acetylglucosamin

Trotz der attraktiven Möglichkeit einer kontinuierlichen Synthese des Neu5Ac-LacNAc Trisaccharids wurde im Rahmen der eigenen Untersuchungen zunächst der diskontinuierliche Weg bevorzugt. Zum einen lassen sich enzymatische Mehrschritt-Synthesen allgemein schwerer regeln und analysieren, was insbesondere dadurch relevant wird, als mehrere Intermediate potente Inhibitoren einzelner Biokatalysatoren darstellen und auch die überstöchiometrische Akkumulation des reaktiven Pyruvat eine Gefahrenquelle ist. Darüber hinaus kann auch die Aufreinigung der Produkte unter Umständen Schwierigkeiten bereiten. Die in größeren Mengen zur Verfügung stehenden CMP-aktivierten Sialinsäuren wurden daher stöchiometrisch auf die fluoreszenzmarkierten LacNAc- bzw. Lactose-Glycoside als Sialylakzeptorverbindungen übertragen.

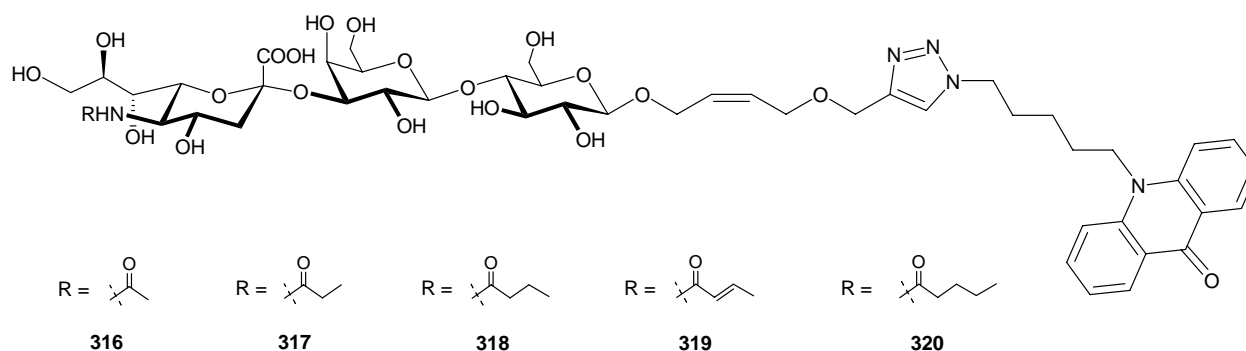
Neben der kommerziell erhältlichen  $\alpha$ -2,3-Sialyltransferase aus Kuhmilch und  $\alpha$ -2,6-Sialyltransferase aus Rattenleber sollte aus Kostengründen vor allem die  $\alpha$ -2,3-Sialyltransferase aus *C. jejuni* als Rohenzym (Bereitstellung im Arbeitskreis durch Dr. Jennewein) für präparative Synthesen eingesetzt werden. Hierbei galt es die synthetischen

CMP-Neu5-Derivate **290-294** als Donoren mittels der  $\alpha$ -2,3-Sialyltransferase-katalysierten Reaktion auf das Lactosyl-Spacer-Acridon **306** als Akzeptorbaustein zu übertragen. Erstmals sollten hierbei Ansätze im  $\mu\text{mol}$ -Maßstab Hinweise auf die präparative Durchführbarkeit der Synthese liefern. Bei erfolgreicher Umsetzung wäre die Möglichkeit zum Scale-up gegeben. Wegen der hohen Preises kommerzieller Sialyltransferasen ist der Produktionseinsatz wie Fermentation und Aufreinigung des hier eingesetzten Enzyms im Hinblick auf die hohe Wertschöpfung der synthetisierten Oligosaccharide zu rechtfertigen, da das Enzym praktisch in größeren Mengen zur Verfügung steht und somit präparativ keine Grenzen gesetzt sind.



**Abb. 96:** Sialyltransfer mit CMP-Neu5Ac-Derivaten

Die Reaktionsansätze wurden in 2 mL-Eppendorf-Reaktionsgefäßen auf einem Thermomixer bei Raumtemperatur durchgeführt, um eine optimale Durchmischung zu erreichen. Wegen der schlechten Löslichkeit des Akzeptors im Puffer wurde diese Komponente zuerst in 100  $\mu\text{L}$  DMSO angelöst und anschließend dem Reaktionsmedium zugegeben. Nachdem Vorversuche zeigten, dass die Aktivität der SiaT-Rohpräparation absolut ausreichend und frei von inkompatiblen Enzymaktivitäten war, um präparative Umsetzungen durchzuführen, wurde das Enzym über mehrere Portionen verteilt direkt als Rohlösung zugegeben. Eine Bestimmung der Enzymaktivität des Rohenzym nach einer aus der Literatur adaptierten Methode scheiterte allerdings<sup>[393]</sup>. Entscheidend für die Reaktion war auch die ständige Kontrolle des pH-Werts, der durch gelegentliche Zugabe von NaOH im Bereich des Optimums bei pH 7.8 gehalten werden mußte.



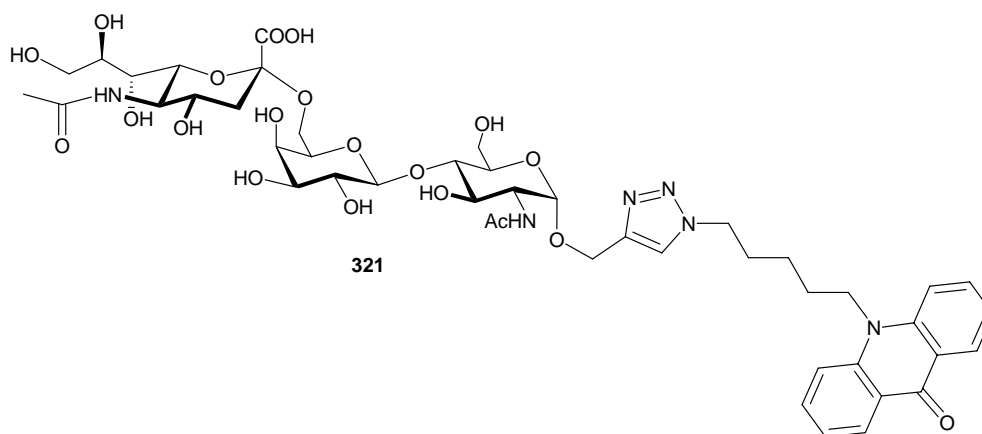
**Abb. 97:** Synthese von Trisacchariden **316-320** mit  $\alpha$ -2,3-SiaT aus *C. jejuni*

Die Aufreinigung der Produkte erfolgte anfangs nach der bereits bekannten Größenausschlußchromatographie an Biogel P2. Jedoch zeigte sich, dass diese Methode keine vollständige Aufreinigung gewährleistete. Eine in Anschluß durchgeführte Chromatographie der so vorgereinigten Produkte an Kieselgel verbesserte die Ergebnisse nur geringfügig. Erst die Aufreinigung der entsprechenden Trisaccharide über RP-Kieselgel brachte den gewünschten Erfolg. Hierbei empfiehlt es sich, die Substanzen nach Vorreinigung an Biogel P2 anschließend auf RP-Kieselgel aufzutragen und nach Waschen mit Wasser mit 30-50% methanolischer Lösung in reiner Form zu eluieren. Eine direkte Aufreinigung des enzymatischen Reaktionsansatzes ist plausibel, wurde aber im Rahmen der eigenen Untersuchungen bisher noch nicht durchgeführt. Die Ergebnisse aller neuen Synthesen sind in **Tabelle 25** zusammengefasst.

**Tabelle 25:** Synthese fluoreszenzmarkierter Sialotrisaccharide

Edukt	Produkt	Ausbeute (%)
CMP-Neu5Ac <b>289</b>	Neu5Ac- $\alpha$ -2,3-Lactosid <b>316</b>	92
CMP-Neu5Prop <b>290</b>	Neu5Prop- $\alpha$ -2,3-Lactosid <b>317</b>	88
CMP-Neu5But <b>291</b>	Neu5But- $\alpha$ -2,3-Lactosid <b>318</b>	87
CMP-Neu5Crot <b>292</b>	Neu5Crot- $\alpha$ -2,3-Lactosid <b>319</b>	83
CMP-Neu5Pent <b>293</b>	Neu5Pent- $\alpha$ -2,3-Lactosid <b>320</b>	85
CMP-Neu5Ac <b>289</b>	Neu5Ac- $\alpha$ -2,6-Lactosid <b>321</b>	86

Für die 2,6-Verknüpfung wurde die bereits erwähnte kommerzielle  $\alpha$ -2,6-Sialyltransferase aus Rattenleber verwendet. Von diesem Enzym ist bekannt, dass es von den käuflich erhältlichen dasjenige mit der größten Substrattoleranz ist. Im Rahmen der eigenen Untersuchungen wurde beispielhaft das aktivierte Neu5Ac-Konjugat **289** unter Katalyse der  $\alpha$ -2,6-Sialyltransferase mit dem Akzeptor **315** unter vollständigem Verbrauch des Akzeptors übertragen und das entsprechende Produkt **321** in guten Ausbeuten von 86% isoliert und charakterisiert. Wegen der hohen Kosten des Enzyms wurde im Rahmen dieser Arbeit zunächst auf weitere Synthesen verzichtet.



**Abb. 98:** Synthese des Trisaccharids **321** mit  $\alpha$ -2,6-SiaT aus Rattenleber

### 3.4.12 Ausblick

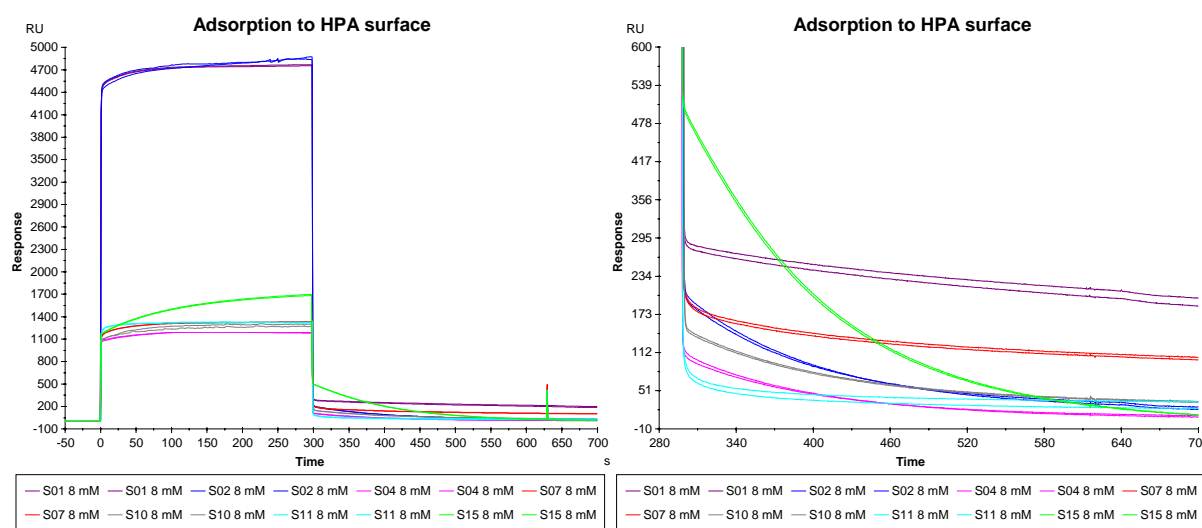
Wie aus **Tabelle 21** zu entnehmen, konnten beim enzymatischen Sialyltransfer fünf fluoreszenzmarkierte Trisaccharide mit einer  $\alpha$ -2,3-Verknüpfung sowie ein Trisaccharid mit einer  $\alpha$ -2,6-Verknüpfung in guten Ausbeuten synthetisiert werden. Erfreulich war vor allem die gute Spezifität der  $\alpha$ -2,3-Sialyltransferase aus *C. jejuni* für die sterisch anspruchsvollen Lactoside als Akzeptorsubstrate. Obwohl einige aktuelle Arbeiten mittlerweile über Eintopf-Synthesen von Sialo-Trisacchariden berichten<sup>[146-148,272]</sup>, wurden im Rahmen eigener Untersuchungen die enzymatischen Schritte einzeln durchgeführt. Dies ist vorrangig darin begründet auch damit zusammen, dass im Rahmen dieser Arbeit zuerst die relative Substratspezifität der Neu5Ac-Synthase zu prüfen war. Da unter Einbezug der NeuS Mehrschritt-Synthesen neue Probleme aufwerfen, wären zunächst umfangreiche Voruntersuchungen notwendig, um ein solches System auszuarbeiten.

Die von *Knorst*<sup>[111]</sup> und *Porzelle*<sup>[149,150]</sup> entwickelte reversible Festphasensynthese unter Benutzung von RP-C<sub>18</sub>-Kieselgel als Träger ist im Rahmen weiterer Untersuchungen der enzymatischen Sialylübertragungen als alternative Route geplant.



### 3.4.13 Messung der Bindungsaffinität von Fluoreszenz-markierten Substraten

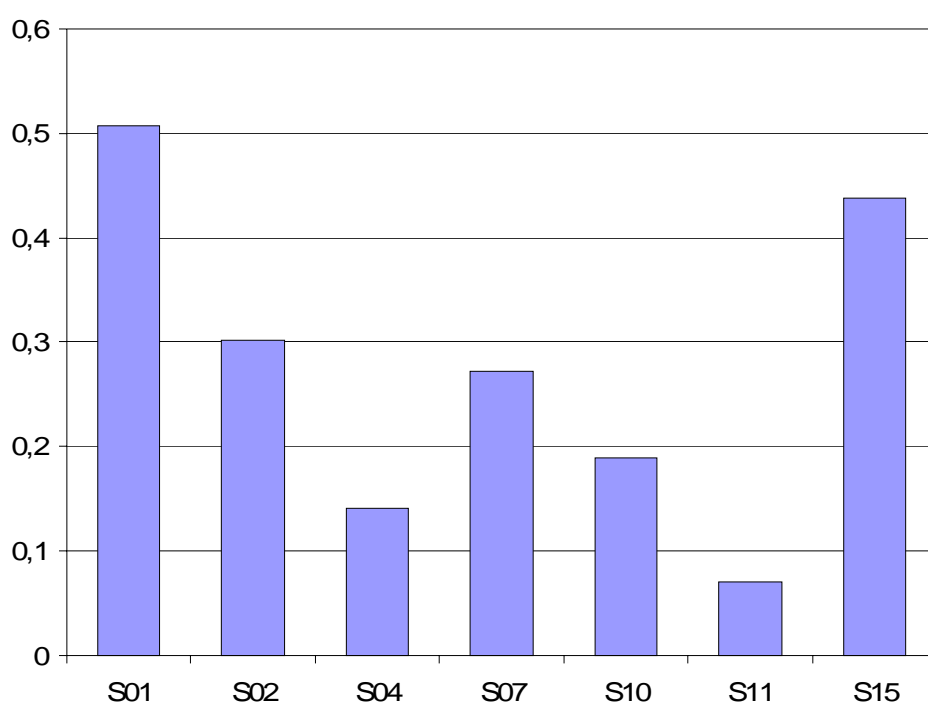
Um den Einfluss der verschiedenen Fluoreszenz-markierten Substrate auf die Stärke der Bindung von Anker zu RP-Silicagel abzuschätzen, wurde die Bindungsaffinität einer Reihe von Verbindungen mit einem Biacore 2000 Gerät an einem Sensorchip (langkettiges Alkanthiol auf Au) untersucht.



**Abb. 99:** Sensogramme einiger ausgewählter Substrate, aufgetragen bei einer Konzentration von 8 mM

Einleitende Experimente zeigten, dass die Wahl des Laufmittels kritisch für das Erhalten von brauchbaren Bindungskurven ist. Um den Drift der Basislinie und das Rauschen zu minimieren, war die Zugabe von Detergenz (0.05% Tween20 v/v) essentiell. Der Ethanolanteil musste auf 2 % (v/v) verringert werden, um eine stabile Bindung nach der Injektion zu erhalten. Da keine Referenzzelle benutzt werden konnte, konnten nur die primären Messdaten für die Interpretation herangezogen werden. Das nach der Injektion erhaltene Signal hängt nicht nur von der Struktur des Analyten und seiner Konzentration, sondern auch von der Oberfläche des Sensors ab. Die durchgeführten Messungen zeigten, dass die Sensoroberfläche nicht sehr stabil ist, dass also die Kapazität des Sensorchips mit der Zeit allmählich abnimmt. Um den Zustand der Oberfläche des Sensors zu überprüfen, müssten zusätzliche Kontrollmessungen durchgeführt werden, was aufgrund des Fehlens einer

geeigneten Referenz bisher jedoch noch nicht möglich war. Ob die während der Injektion beobachteten, großen Signale von der Änderung des Brechungsindex des Laufmittels oder von einer schwachen Interaktion bzw. Adsorption der Probe an der Sensoroberfläche herrühren, ist zur Zeit noch nicht klar. Sollte Letzteres der Fall sein, zeigen die untersuchten Verbindungen eine weitere, sehr schwache, kurzlebige Interaktion mit der Oberfläche. Die Dissoziation dauert in diesem Fall nur wenige zehntel Sekunden. In regelmäßigen Abständen wurden Pufferinjektionen vorgenommen, die auch zur Referenzierung verwendet wurden. Hierzu wurde die Pufferkurve von der Kurve der Probe subtrahiert, um systematische Artefakte (z. B. Rauschen und Drift der Basislinie) zu eliminieren.



**Abb. 100:** Bindungsaffinität einiger Substrate im Vergleich. Bezeichnung und Struktur der einzelnen Substrate s. **Tabelle 26**

Um die Ergebnisse zu untermauern, wurden die Substrate alternativ mit Hilfe der HPLC vermessen. Über die Retentionszeiten sollte überprüft werden, ob eine Korrelation zu den bereits an einem Sensorchip gemessenen Werten besteht und ob beobachtete Tendenzen übereinstimmen. Hierbei stimmten, wie aus **Abb. 100** ersichtlich, die erwarteten Werte mit den gemessenen gut überein.

Betrachtet man die Reihenfolge von links aus (**1-3**), so ist der Einfluss eines Triazol-Elements (**2**) an der abnehmenden Retentionszeit bzw. Affinität zu erkennen. Lässt man den hydrophoben Spacer ganz weg (**3**), so sinkt die Affinität weiter. Bringt man zusätzlich einen weiteren hydrophilen Glycosyl-Rest ein (**4**), der anschließend mit einer Sialinsäure verknüpft

wird (**5**), so nimmt durch die zunehmende Hydrophilie des Gesamtmoleküls die Affinität rapide ab.

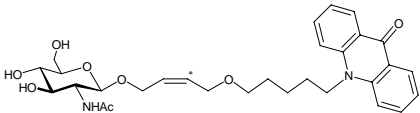
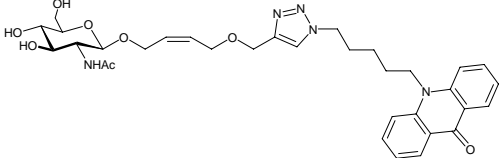
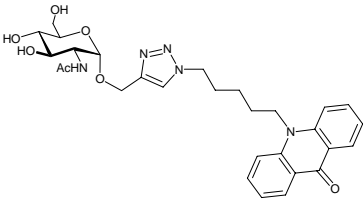
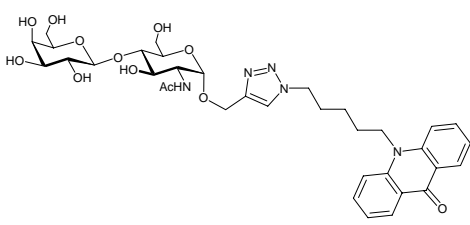
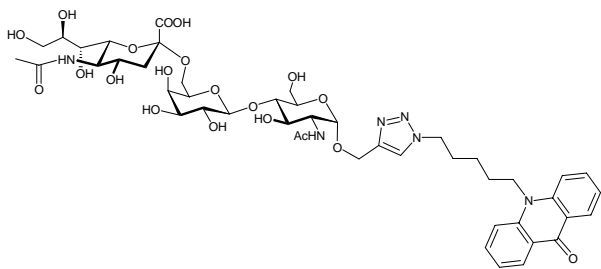
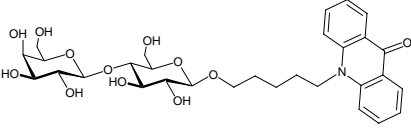
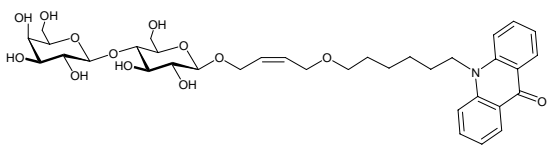
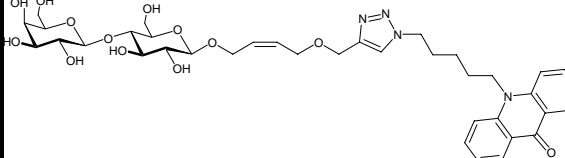


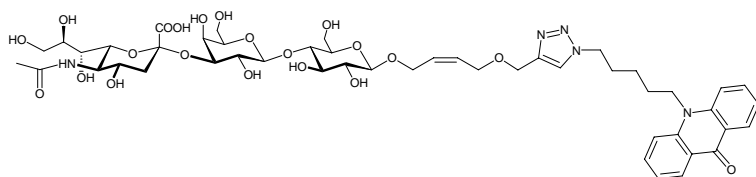
**Abb. 101:** HPLC-gemessene Retentionszeiten. Bezeichnung und Struktur der einzelnen Substrate s. **Tabelle 26**

Ähnliche Tendenzen waren bei den Lactosiden **6,7** und **10** zu beobachten. Auch hier brachte die Anknüpfung einer Sialinsäure eine Erhöhung der Hydrophilie mit sich, was sich an der abnehmenden Affinität bemerkbar machte. Jedoch war aus **Abb. 101** auch der Effekt der hydrophoben Substituenten am Stickstoff der Sialinsäure deutlich abzulesen (**11-15**). Bei zunehmender Alkyl-Kettenlänge ausgehend vom Methyl-Rest (**11**) konnte eine zunehmende Affinität zum Trägermaterial festgestellt werden (Pentyl-Rest **15**).

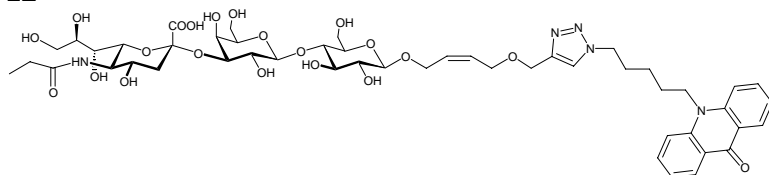
Obwohl für bessere quantitative Aussagen weitere Biacore-Messungen am Sensorchip notwendig wären, zeigten die ausgewählten Beispiele einen relativ guten Überblick über die Bindungsaffinitäten von Acridon-gelabelten Substraten. HPLC-Messungen ergaben einen Gesamtüberblick der Retentionszeiten aller Substrate, die zum Zeitpunkt der Messungen zur Verfügung standen und lieferten wichtige orientierende Informationen über den Einfluss einzelner Molekülkomponenten auf das Affinitätsverhalten bezüglich des Trägermaterials.

**Tabelle 26:** Strukturen der gemessenen Verbindungen

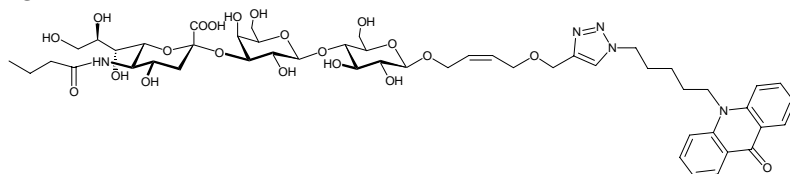
Nr.	Verbindung	Nr.	Verbindung
<b>1</b>	 $C_{30}H_{38}N_2O_8$ 554.63	<b>2</b>	 $C_{33}H_{41}N_5O_8$ 635.71
<b>3</b>	 $C_{29}H_{35}N_5O_7$ 565.62	<b>4</b>	
<b>5</b>	 $C_{46}H_{62}N_6O_{20}$ 1019.01	<b>6</b>	 $C_{35}H_{45}N_5O_{12}$ 727.76
<b>7</b>	 $C_{35}H_{47}NO_{13}$ 689.75	<b>10</b>	 $C_{37}H_{48}N_4O_{13}$ 756.8

**11** $C_{48}H_{65}N_5O_{21}$ 

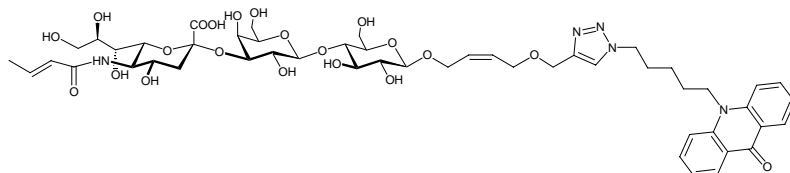
1048.05

**12** $C_{49}H_{67}N_5O_{21}$ 

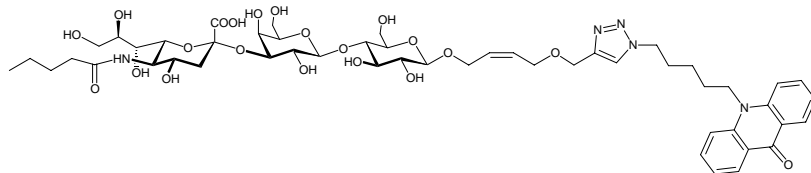
1062.08

**13** $C_{50}H_{69}N_5O_{21}$ 

1076.10

**14** $C_{50}H_{67}N_5O_{21}$ 

1074.10

**15** $C_{51}H_{71}N_5O_{21}$ 

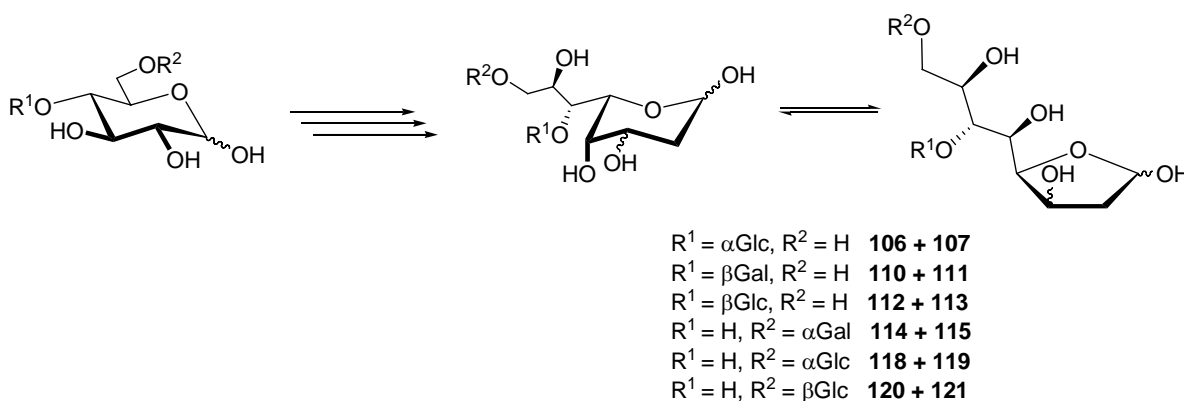
1090.13

## IV Zusammenfassung

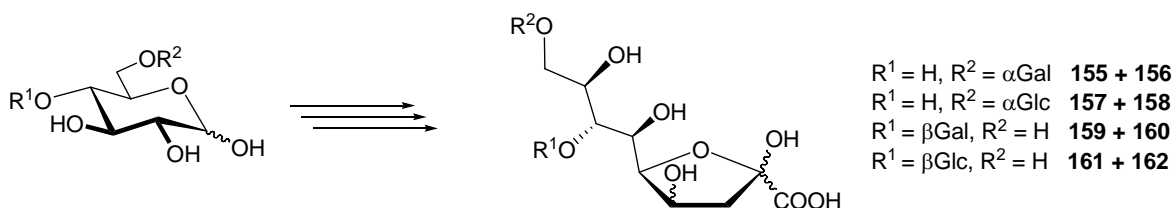
Das zunehmende Wissen über Zelloberflächen-Erkennungsmechanismen, wo Sialinsäuren eine essentielle Rolle spielen, bedingt einen steigenden Bedarf an Sialokonjugaten für biologische Studien. Um die entsprechenden Vorstufen in ausreichender Menge zur Verfügung zu stellen, stehen komplementäre chemische und enzymatische Methoden zur Verfügung. Vor allem die In-vermittelte chemische Synthese von Sialinsäuren ist in den Mittelpunkt des Interesses gestossen, nachdem es gelang, Seitenketten-verkürzte Analoga zu synthetisieren, die über einen enzymatischen Weg nicht zugänglich waren. Jedoch sind enzymatische Methoden hoch interessant, da diese bei breiter Substrattoleranz schnellen und bequemen einen Zugang zu einer Vielzahl modifizierter Sialinsäuren verschaffen. Der eigentliche Aufbau zum Sialokonjugat erfordert zunächst die enzymatische Aktivierung der Sialinsäure mit anschließender Übertragung auf einen Akzeptor. Hierbei gilt es, möglichst einheitlich konfigurierte Akzeptoren zur Verfügung zu stellen, um anschließend eine spektroskopische Charakterisierung zu vereinfachen. Der Einsatz vom Acridon-Fluoreszenzmarkern hat sich bei der Reaktionskontrolle und der anschließenden Aufreinigungsmethode über RP-C<sub>18</sub>-Kieselgel bewährt.

- **Indium-vermittelte Synthese von KDN-Derivaten**

Die für die Synthese von Sialinsäuren bewährte Indium-vermittelte Allylierung von Aldosen nach der Barbier-Methode konnte erstmals auf kommerziell erhältliche Disaccharide mit *gluco*-Konfiguration am reduzierenden Ende zur Synthese von neuen 2-Desoxy-Zuckern bzw. 4,5-*bisepi*-KDN-Derivate übertragen werden. Durch Einsatz von Allylbromid unter leicht aciden Bedingungen konnten die entsprechenden 2-Desoxy-Komponenten als Diastereomerengemische im Verhältnis 5-6:1(*threo*/*erythro*) erhalten werden.

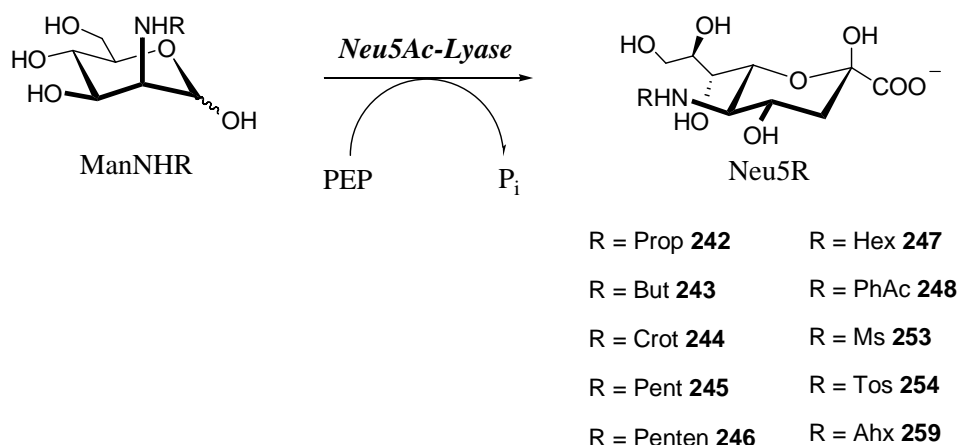


Beim Einsatz von Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat gelang die Synthese der 4,5-*bisepi*-KDN-Derivate als Diastereomerengemische im Verhältnis 5-8.5:1(*threo*/*erythro*). Hierbei lagen die entsprechenden Sialinsäurestrukturen in ihrer furanoiden Form vor.

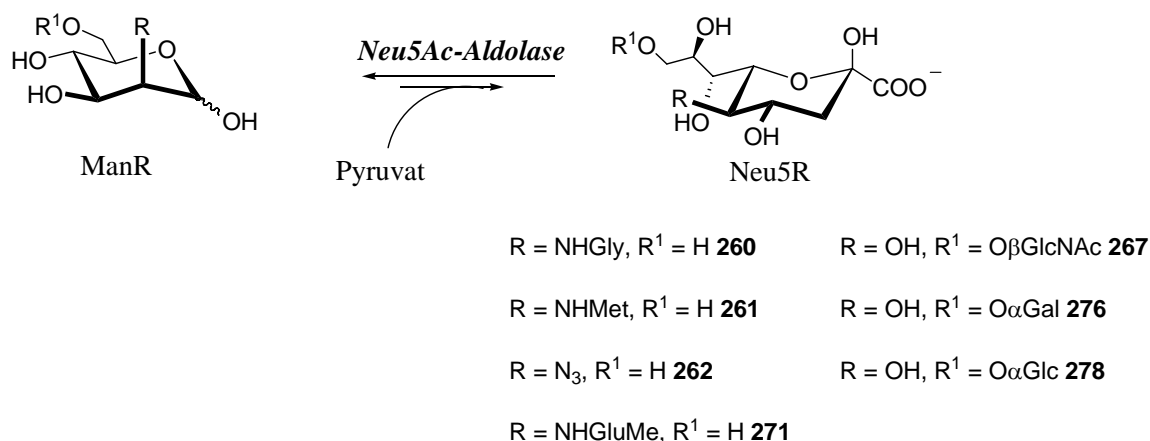


### • Enzym-katalysierte Synthese von Sialinsäuren

Mit dem rekombinanten *E.coli*-Stamm JM105/pKKNeuAc\_3 konnte die Lyase des humanpathogenen Bakteriums *Neisseria meningitidis* neu produziert und für die präparative Synthese eingesetzt werden. Die Neu5Ac-Lyase (NeuS)-katalysierte Reaktion verläuft im Gegensatz zur Neu5Ac-Aldolase (NeuA) irreversibel unter Verbrauch eines Äquivalent an PEP ab. Zum anderen erweist sich die Abtrennung der Produkte von nicht umgesetztem Edukt oder Nebenprodukten als weitaus weniger schwierig als bei der Verwendung der Aldolase, da hier nicht mit Überschüssen von Pyruvat wie im Fall der NeuA-Katalyse gearbeitet wird. Die hierfür benötigten, am Stickstoff modifizierten Mannosamin-Derivate konnten nach bekannten chemischen Verfahren synthetisiert werden.



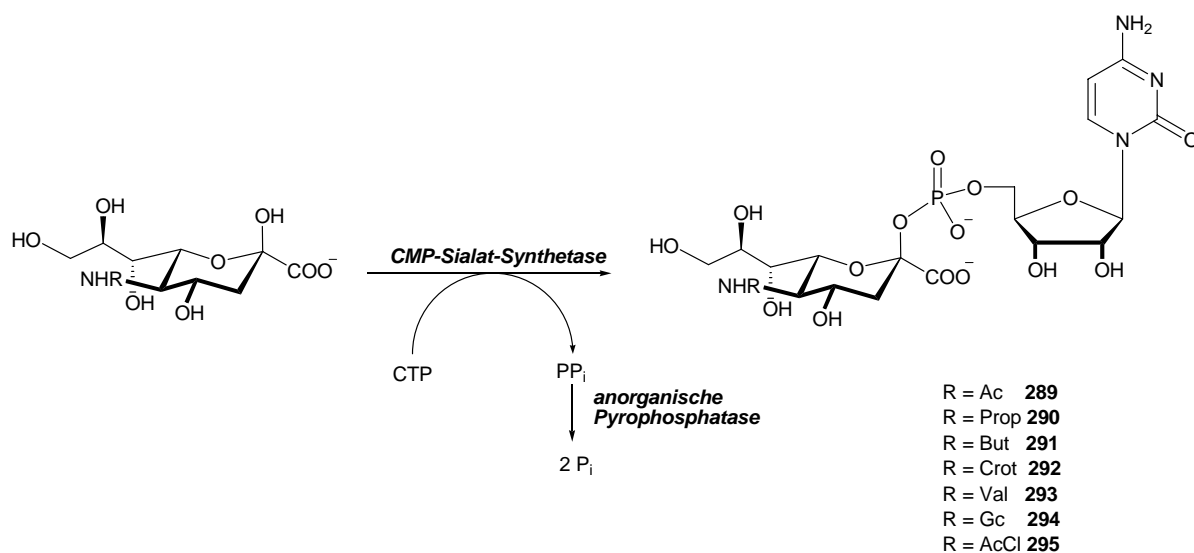
Mit der kommerziellen Neu5Ac-Aldolase konnte eine Reihe weiterer Mannose-Derivate umgesetzt werden, die von der NeuS nicht als Substrate akzeptiert werden. Hierbei gelang auch erstmals die Umsetzung *manno*-konfigurierter 1,6-verknüpfter Disaccharide zu neuratigen, 9-glycosylierten Sialinsäurederivaten.



#### • Substrattoleranz der CMP-Neu5Ac-Synthetase

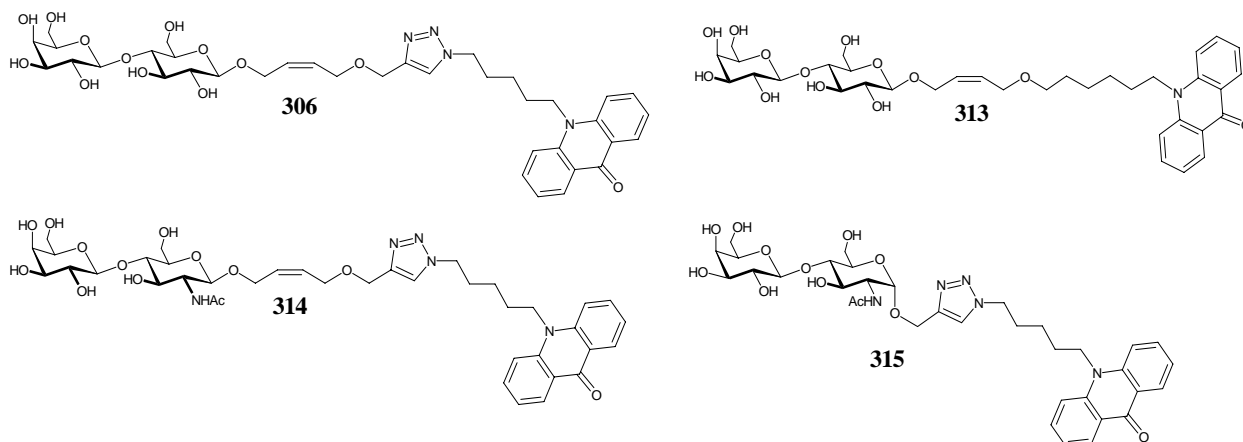
Mit dem rekombinanten *E.coli*-Stamm JM105/pKKCMP konnte die neu produzierte CMP-Sialat-Synthetase aus *N. meningitidis* zur Synthese weiterer CMP-Konjugate **289-295**, die an C-5-Position modifizierter Sialinstrukturen enzymatisch im präparativen Maßstab mit Ausbeuten >75% zu den entsprechenden erfolgreich genutzt werden.

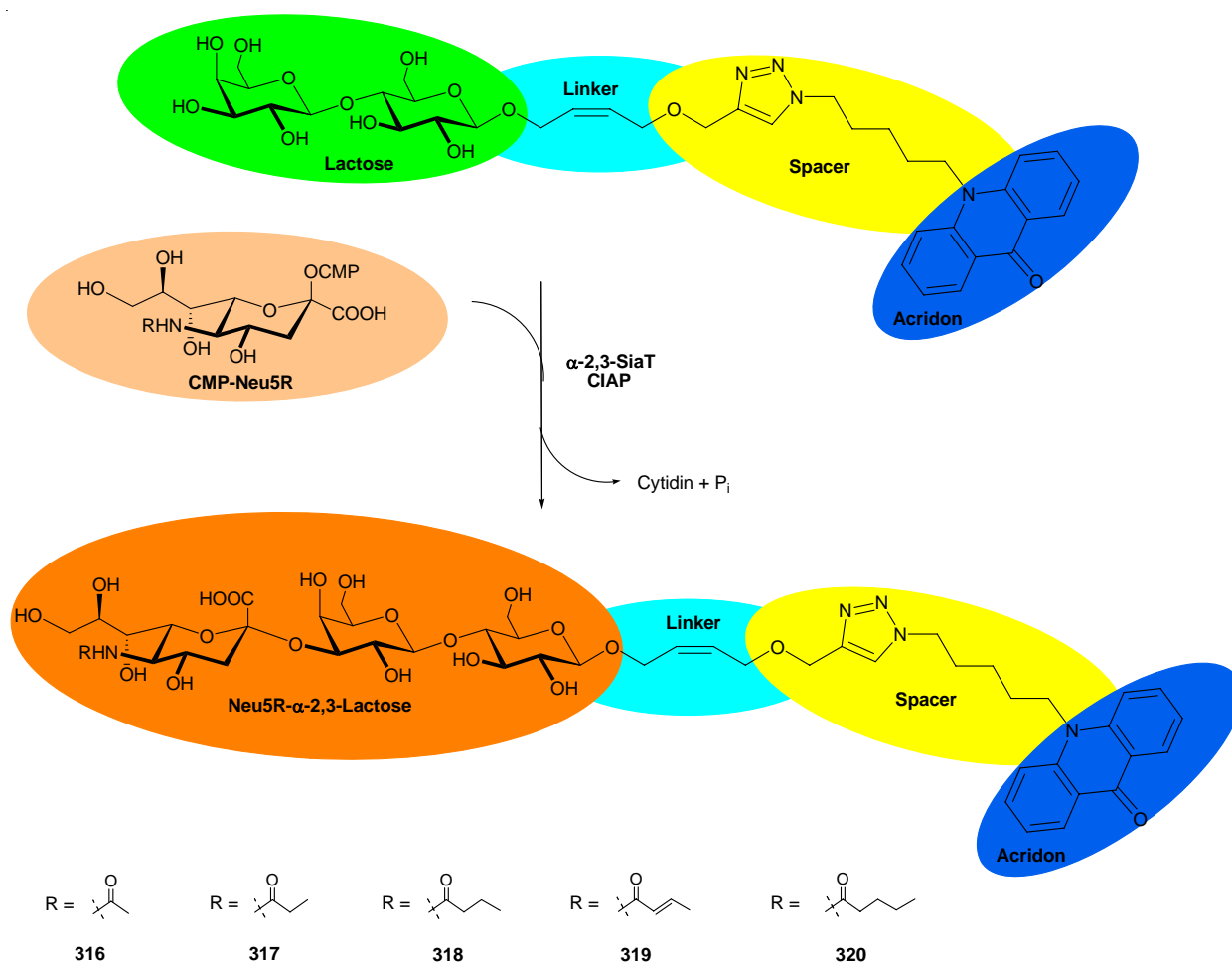




### • Sialyltransfer

Mit einem weiteren Enzym, der  $\alpha$ -2,3-Sialyltransferase aus *C. jejuni*, gelang es, die aktivierten CMP-Konjugate mittels der SiaT auf fluoreszenzmarkierte Akzeptorsubstrate zu übertragen. Als Fluoreszenzmarker wurde ein Acridon-Anker eingesetzt, der sich bereits aus früheren Untersuchungen als besonders stabil erwies und hoch empfindlich detektierbar ist. Die Akzeptorsubstrate wurden nach chemischen (**306**, **313**) bzw. chemoenzymatischen (**314**, **315**) Methoden hergestellt und auf ihre Verwendbarkeit in enzymatischen Reaktionen hin getestet.





## V Experimenteller Teil

### 5.1 Allgemeine Vorbemerkungen

#### *NMR-Spektroskopie*

Die Aufnahme der  $^1\text{H}$  und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren erfolgte mit Spektrometern der Baureihen Bruker AC-300 und Varian Unity 500 am Institut für Organische Chemie der TU Darmstadt. Die Angabe der chemischen Verschiebungen erfolgten in ppm. Sämtliche Messungen wurden bei 295 K durchgeführt. Die Signalmultiplizitäten (s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multiplett), die Intensitäten und die strukturellen Zuordnungen sind in Klammern angegeben. Die  $^{13}\text{C}$ -Spektren sind  $^1\text{H}$ -breitbandentkoppelt. Die Zuordnung der Signale erfolgte mit Hilfe von Literaturangaben, Vergleichswerten sowie DEPT- oder  $^1\text{H}/^1\text{H}$ - (COSY) bzw.  $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -korrelierten Spektren.

#### **Massenspektren**

*Finnigan MAT 212, EI 70 eV*

*Finnigan MAT 95*

#### **Photospektrometrie**

Ultrospec Plus Spectrophotometer, Pharmacia LKB

#### **Zentrifuge**

Eppendorf Zentrifuge 5415 C, Biofuge 28 RS

*Superspeed RC2-B, Sorvall*

#### **pH-Meter**

Calimatic 761, Fa. Knick

#### **MilliQ-Anlage**

*MilliQ UF Plus, Millipore*

**Gefriertrocknung**

*Lyovac GT 2, Steris*

**Ozonolyse**

Ozon-Generator Modell 502, Fa. Fischer.

**Dünnschichtchromatographie**

Zur Kontrolle des Reaktionsverlaufs und der Reinheit der synthetisierten Produkte wurden Kieselgel-Fertigfolien 60 F<sub>254</sub> bzw. HPTLC-Glassplatten Kieselgel 60 F 254 (0.25mm) der *Fa. Merck*, Darmstadt, verwendet. Zur Identifikation der Substanzflecken dienten zusätzlich folgende Methoden:

- UV-Absorption bei 254 nm
- Fluoreszenz-Anregung bei 366 nm
- Benetzen mit Anisaldehydreagenz und anschließendes Erhitzen (200 mL Ethanol, 5.5 mL Anisaldehyd, 7.5 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2.25 mL AcOH)

**Säulenchromatographie**

Kieselgel 60, Korngröße 63-200 µm, *Fa. Merck*

Kieselgel 60, Korngröße 40-63 µm, *Fa. Merck*

Kieselgur Celite 535, *Fa. Fluka*

Aktivkohle, pulverisiert, *Fa. Merck*

Bio Gel P-2 fine, Korngröße 65±20 µm, *BioRad*

Kieselgel 100 C<sub>18</sub>-Umkehrphase, Korngröße 40-63 µm, fully uncapped, *Fluka*

**Kationentauscher**

- Dowex 50 WX8 pract. (H<sup>+</sup>-Form, 100-200 mesh), *Fa. Serva*
- Amberlyst®15

**Anionentauscher**

- Dowex 1-X8 pract. (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Form, 100-200 mesh), *Fa. Serva*

### **Affinitätsmessungen**

Es wurde eine Anlage vom Typ BIACORE 2000 von Biacore AB verwendet. Als Sensor Chip kam ein Biacore AB HPA (langkettiges Alkanthiol auf Au) zur Anwendung. Als Laufmittel kam eine Lösung von 150 mM NaCl, 10 mM HEPES (pH 7.4), 3 mM EDTA, 0.05% (v/v) Tween20 (Polysorbat) in Wasser mit 2% (v/v) EtOH zum Einsatz. In Konzentrationen von 8 mM, 4 mM, 2 mM, 1 mM, 500  $\mu$ M, 250  $\mu$ M und 125  $\mu$ M im Laufmittel gelöst und über einen Zeitraum von 5 min injiziert. Zur Regeneration der Sensoroberfläche wurden in regelmäßigen Abständen Pufferinjektionen vorgenommen, die auch zur Referenzierung verwendet wurden. Hierzu wurde die Pufferkurve von der Kurve der Probe subtrahiert, um systematische Artefakte (z. B. Rauschen und Drift der Basislinie) zu eliminieren.

### **HPLC-Messungen**

Das Standardinjektionsvolumen betrug 10  $\mu$ L. Für die Messungen wurde ein Gradient von H<sub>2</sub>O/MeCN 9:1 (v/v) nach H<sub>2</sub>O/MeCN 1:9 (v/v) eingesetzt (0 min: H<sub>2</sub>O/MeCN = 9:1, 10 min: H<sub>2</sub>O/MeCN = 1:1, 15 min: H<sub>2</sub>O/MeCN = 1:9). Die Messungen erfolgten bei einer Flussrate von 1 ml/min und einer Säulentemperatur von 35 °C. Als stationäre Phase wurde eine Säule ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6 x 150 mm, 5  $\mu$ m Partikelgröße) von Agilent eingesetzt. Die Detektion erfolgte bei 380 nm.

**Verwendete Enzyme**

EC 2.4.1.22	$\beta$ -1,4-Galactosyltransferase	<i><math>\beta</math>-1,4-GalT, Fluka</i> lyophilisiert, 0.89 U/mg
EC 2.4.99.1	$\alpha$ -2,6-Sialyltransferase aus Rattenleber	<i><math>\alpha</math>-2,6-SiaT, Calbiochem</i> 100 mU
EC 2.7.1.40	Pyruvat-Kinase Typ 1 aus Kaninchenmuskeln	<i>Sigma</i> , Suspension in 2.9 M (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -Lsg.
EC 2.7.4.3	Adenylatkinase (Myokinase) aus Kaninchenmuskeln	<i>Sigma</i> , Suspension in 3.2 M (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -Lsg.
EC 2.7.7.43	CMP-Sialat-Synthetase aus <i>Neisseria meningitidis</i>	
EC 3.1.3.1	alkalische Phosphatase aus Rinderdarmschleimhaut	<i>CIAP, Fluka</i> 1649 U/mg
EC 3.6.1.1	anorganische Pyrophosphatase aus Bäckerhefe	<i>Ppase, Sigma</i> 1280 U/mg
EC. 4.1.3.3	Neuraminsäure-Aldolase	<i>NeuA, Sorachim</i> 24.1 U/mg
EC. 4.1.3.19	Neuraminsäure-Lyase aus <i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Neus</i>
EC. 5.1.3.2	UDP-Gal-4-Epimerase aus <i>E.coli</i>	<i>Calbiochem</i> , lyophilisiert 1.4 U/mg

**Pufferlösungen****Phosphatpuffer**1.0 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 1.3 M  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 

pH 7.0

**Tris-Puffer**

50 mM Tris

5 mM  $\text{MnCl}_2$ 

2.5 mM Dithiothreitol

pH 8.0

**PEP-Lösung**PEP- $\text{K}_1$ -Salz

2 g

2 N NaOH

10.5 mL

pH 8.0

**Natriumcacodylat-Puffer** $\text{C}_2\text{H}_6\text{AsO}_2\text{Na} \times 3\text{H}_2\text{O}$ 

1.07 g

 $\text{H}_2\text{O}$  (Milli-Q)

100 mL

50 mM

pH 7.8

## 5.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften

### AAV 1: Indium-vermittelte Allylierung von Kohlenhydraten mit Allylbromid bzw. Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat

Eine Lösung des entsprechenden Aldehyds bzw. Zuckers in einem Gemisch aus Ethanol / 0.1 M HCl<sub>aq.</sub> wird mit Allylbromid, Bromisopren oder Ethyl-2-(brommethyl)-acrylat (2-16 Äquivalente) versetzt. Zu dieser Lösung gibt man portionsweise 2-6 Äquivalente Indiumpulver und behandelt das Reaktionsgemisch im Ultraschallbad, bis eine DC-Kontrolle vollständigen Umsatz anzeigt (5 h-19 d). Der Reaktionsansatz wird mit 0.1 M NaOH vorsichtig auf pH 7.0 eingestellt, mit Phosphatpuffer (1.0 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.3 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7.0; 1.2 Äquivalente, in Bezug auf die eingesetzte Indiummenge) versetzt und bei Raumtemperatur von ausgefallenen Indiumsalzen abzentrifugiert. Das Zentrifugat wird durch Filtration über Ionentauscher (1. H<sup>+</sup>, 2. HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Form) entsalzt und im Vakuum eingeeengt. Der verbleibende Rückstand wird entweder im HV getrocknet oder bei Bedarf in Wasser aufgenommen und lyophilisiert.

### AAV 2: Acetylierung der Allylierungsprodukte

Die erhaltenen Allylierungsprodukte werden in Pyridin (5 mL / mmol Substrat) gelöst, mit Ac<sub>2</sub>O (2 Äquivalente) versetzt und bei RT für 15-18 h gerührt. Nach vollständigem Umsatz wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt über Kieselgel gereinigt.

### AAV 3: Ozonolyse der Allylierungsprodukte

Durch eine Lösung des Allylierungsprodukts in Methanol (20-50 mL pro mmol Substrat, bei schlechter Löslichkeit Zugabe von Wasser) wird bei -78°C für 10-15 Minuten Ozon eingeleitet. Nach dem Auftreten einer Blaufärbung wird für weitere 5 Minuten Ozon durch die Lösung geleitet und anschließend überschüssiges Ozon durch Einleiten von Sauerstoff ausgetrieben. Die Ozonolyse-Lösung wird durch Zugabe von Dimethylsulfid in Kälte (0.5 mL / mmol Substrat) reduktiv aufgearbeitet, langsam auf Raumtemperatur erwärmt und



so lange gerührt, bis eine DC-Kontrolle die vollständige Zersetzung des Ozonids anzeigt (8-20 h). Die Lösung wird anschließend bis auf wenige mL Lösung im Vakuum eingeeengt, mehrfach in Wasser aufgenommen und wieder eingeeengt, um den bei der Ozonolyse entstandenen Formaldehyd vollständig zu entfernen.

#### **AAV 4: Hydrolyse**

Der zu hydrolysierende Ester bzw. Lacton wird pro mmol in 15 mL eines 2:1-Gemisches von Methanol und Wasser gelöst, mit 2-6 Äquivalenten wässriger LiOH-Lösung (0.5 M) auf pH 8-9 eingestellt und bei Raumtemperatur für mehrere Tage gerührt. Bei Bedarf wird mit 0.5 M LiOH nachdosiert, bis der pH-Wert konstant bleibt. (Nach vollständiger Reaktion wird die Lösung mit  $H^+$ -Ionentauscher versetzt und nach 10 Minuten abfiltriert. Bei Bedarf wird die so erhaltene Lösung vorsichtig mit LiOH neutralisiert (pH 7) und im Vakuum eingeeengt).

#### **AAV 5: Deacetylierung**

Das acetylierte Substrat wird in MeOH (20 mL pro mmol) gelöst, mit 35 mg NaOMe (pro mmol) versetzt und 2-18 h bei RT gerührt, und mit wenig  $H^+$ -Ionentauscher für einige min gerührt. Das Harz wird abfiltriert, mit etwas MeOH nachgewaschen und die vereinigten methanolischen Phasen eingedampft. Bei Bedarf wird das Produkt durch Kristallisation oder Chromatographie gereinigt.

#### **AAV 6: C-2 Epimerisierung von Aldosen**

Das entsprechende Disaccharid (1.0 mmol) wird in MeOH (40-100 mL) gelöst. Bei schlechter Löslichkeit wird leicht erwärmt.  $CaCl_2 \cdot H_2O$  (1.0 mmol) und  $Et_3N$  (2.0 mmol) werden zugegeben und das Reaktionsgemisch unter Rühren für 10-90 min auf 60°C erwärmt. Anschließend wird mit Wasser (50-200) mL verdünnt, mit 1 M HCl auf pH 7.0 eingestellt und für 30 min bei Raumtemperatur stehengelassen. Das MeOH wird im Vakuum abgezogen, die Lösung mit Wasser verdünnt und zuerst über Kationentauscher (Dowex 50W-X8,  $H^+$ ),

dann über Anionentauscher (Dowex 1-X2,  $\text{HCO}_3^-$ ) filtriert. Nach Abziehen des Wassers im Vakuum werden die entsprechenden Gemische aus Edukt und Epimerprodukt als farbloser oder gelber Sirup erhalten, die ohne weitere Auftrennung für die enzymatische Synthese eingesetzt werden. Der Anteil des Epimers im Gemisch erfolgt mit Hilfe der NMR-Spektroskopie über die Integrale der anomeren Protonen im Verhältnis zum Edukt.

#### **AAV 7a: N-Derivatisierung von D-Mannosamin**

Zu einer Lösung von 1 Äquivalent 2-Amino-2-desoxy-D-mannopyranose Hydrochlorid und 1.1 Äquivalenten NaOMe in absolutem MeOH werden unter Rühren 1 Äquivalent  $\text{Et}_3\text{N}$  und 1.2 Äquivalente des entsprechenden Carbonsäurederivats (Chlorid bzw. Anhydrid) zugetropft. Nach 2-6 stündigem Rühren bei Raumtemperatur wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand über Kieselgel chromatographiert und das gewünschte Mannosamin-Derivat als Gemisch der beiden anomeren Formen erhalten.

#### **AAV 7b: N-Derivatisierung von D-Mannosamin**

1 Äquivalent 2-Amino-2-desoxy-mannopyranose Hydrochlorid, 1.1 Äquivalente 1-Hydroxybenzotriazol, 1 Äquivalent der entsprechenden Carbonsäure und 1 Äquivalent  $\text{Et}_3\text{N}$  werden in absolutem DMF zusammengegeben, auf  $0^\circ\text{C}$  gekühlt und unter Rühren tropfenweise mit 1.2 Äquivalenten *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid versetzt. Die Lösung wird erst 0.5-1 h bei  $0^\circ\text{C}$  und dann solange bei Raumtemperatur gerührt (3-24 h), bis dünnschichtchromatographisch entweder ein vollständiger oder kein weiterer Umsatz mehr zu beobachten ist.

Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen, feste Bestandteile abfiltriert, die wässrige Phase gründlich mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  und AcOEt gewaschen und im Vakuum eingengt. Der verbleibende Sirup wird durch Flash-Chromatographie an Kieselgel weiter gereinigt und liefert das gewünschte Mannosamin-Derivat als Gemisch der beiden anomeren Formen

**AAV 8: [2+3]-Cycloaddition „Click-Reaktion“**

Das entsprechende Zuckerazid wird in wenig Wasser gelöst und die Lösung bei schlecht wasserlöslichen Alkinen mit MeOH, t-BuOH oder THF verdünnt. Bei acetylierten Zuckern wird in MeOH aufgenommen. Das entsprechende Alkin wird hinzugegeben. Man beachte, dass eine homogene klare Lösung entsteht. Anschließend werden bezogen auf das Azid zuerst 25-40% Mol einer 1 M Na-Ascorbat Lösung zugetropft. Man warte ab, bis eine klare Lösung entsteht und gebe zuletzt 10-20% Mol einer 1 M CuSO<sub>4</sub>-Lösung dazu. Das Reaktionsgemisch wird für 2 h bis 2 d bei Raumtemperatur gerührt, bis vollständiger Umsatz (DC-Kontrolle) zu beobachten ist. Das Lösemittel wird im Vakuum abgezogen und das Rohprodukt säulenchromatographisch entweder über Kieselgel (CHCl<sub>3</sub>/MeOH) oder über Aktivkohle/Kieselgur 1:1 mit einem EtOH Gradienten aufgereinigt.

**AAV 9a: Enzymatische Synthese von Neuraminsäuren**

Alle enzymatischen Synthesen mit der Neuraminsäure-Lyase werden in 50 mM Tris-Puffer (pH 8.0) durchgeführt, dem 5 mM MnCl<sub>2</sub> und 2.5 mM Dithiothreitol zugesetzt sind. Zu dem Puffer werden PEP-Lösung (2 g PEP-K<sub>1</sub>-Salz in 10.5 mL 2 N NaOH, pH 8.0) und eine äquimolare Menge des entsprechenden Mannosamin-Derivats gegeben. Der pH-Wert wird nochmals überprüft und bei Bedarf erneut mit 1 N NaOH auf pH 8.0 eingestellt. Anschließend wird die Lyase zugesetzt und der Ansatz für mehrere Stunden bzw. Tage auf einem Schüttler bei Raumtemperatur inkubiert. Bei schlechteren Substraten ist es sinnvoll, die angegebene Menge an PEP nicht gleich zu Beginn der Reaktion komplett, sondern in 2-3 Portionen unterteilt über einen längeren Zeitraum zuzugeben.

Der pH-Wert der Reaktionslösung wird durch manuelle Zugabe von 1 N NaOH konstant gehalten und der Verlauf der Reaktion dünnschichtchromatographisch verfolgt. Mn<sup>2+</sup>-Ionen, die durch das bei der Reaktion entstehende Phosphat gefällt und somit dem Reaktionsgemisch entzogen werden, müssen mehrmals nachdosiert werden (1.7 M MnCl<sub>2</sub>-Stammlösung), um die Enzymaktivität aufrecht zu erhalten. Ist auch durch die Zugabe von weiterem Enzym kein vollständiger Umsatz zu erreichen, wird die Reaktion spätestens nach einer Woche abgebrochen.

Zur Aufarbeitung des Ansatzes wird das Enzym durch 5-minütiges Erhitzen der Reaktionsmischung bei 60°C denaturiert, ausgefallenes Protein und Phosphat abzentrifugiert,

die Neuraminsäure an Anionentauscher (AG 1-X8, Formiat-Form) gebunden, Puffersalze und nicht umgesetzter Zucker durch Spülen mit Wasser entfernt und anschließend die Neuraminsäure mit 0.6-1.5 M Ameisensäure eluiert. Die Produktfraktionen werden mit Hilfe von Dünnschichtchromatographie detektiert, zusammengegeben und durch mehrmaliges Einengen im Vakuum und Wiederaufnehmen in Wasser von überschüssiger Ameisensäure befreit. Abschließend wird das Produkt in wenig Wasser aufgenommen und lyophilisiert.

### **AAV 9b: Enzymatische Synthese von Neuraminsäuren**

Alle enzymatischen Synthesen mit der Neuraminsäure-Aldolase werden in Phosphat-Puffer (0.1 M Phosphat-Puffer pH 7.6/Wasser 1:7 v/v) durchgeführt. Zu 5 mL bzw. 10 mL des Puffers wird 1 mmol des entsprechenden Mannosamin-Derivats (100 mM bzw. 200 mM) und 7-10 Äquivalente Na-Pyruvat gegeben. Man versetzt mit 1 M  $\text{NaN}_3$  (60  $\mu\text{L}$ /5 mL Lösung), überprüft nochmals den pH-Wert und stellt bei Bedarf erneut mit 1 N NaOH auf pH 7.6 ein. Anschließend wird die Aldolase zugesetzt und der Ansatz für mehrere Stunden bzw. Tage auf einem Schüttler bei Raumtemperatur inkubiert. Bei schlechteren Substraten ist es sinnvoll, die angegebene Menge an Aldolase nicht gleich zu Beginn der Reaktion komplett, sondern in 2-3 Portionen unterteilt über einen längeren Zeitraum zuzugeben.

Der pH-Wert der Reaktionslösung wird durch manuelle Zugabe von 1 N NaOH konstant gehalten und der Verlauf der Reaktion dünnschichtchromatographisch verfolgt. Ist auch durch die Zugabe von weiterem Enzym kein vollständiger Umsatz zu erreichen, wird die Reaktion spätestens nach drei Wochen abgebrochen.

Zur Aufarbeitung des Ansatzes wird das Enzym durch 5-minütiges Erhitzen der Reaktionsmischung bei 60°C denaturiert, ausgefallenes Protein und Phosphat abzentrifugiert, die Neuraminsäure an Anionentauscher (AG 1-X8, Formiat-Form) gebunden, Puffersalze und nicht umgesetzter Zucker durch Spülen mit Wasser entfernt und anschließend die Neuraminsäure mit 0.6-1.5 M Ameisensäure oder 50-100 mM  $\text{Et}_3\text{NH}^+\text{HCO}_3^-$  eluiert. Die Produktfraktionen werden mit Hilfe von Dünnschichtchromatographie detektiert, zusammengegeben und durch mehrmaliges Einengen im Vakuum und Wiederaufnehmen in Wasser von überschüssiger Ameisensäure befreit. Abschließend wird das Produkt in wenig Wasser aufgenommen und lyophilisiert.

**AAV 10: Enzymatische Synthese von CMP-Neuraminsäuren**

Alle enzymatischen Synthesen mit der CMP-Sialat-Synthetase werden in 50 mM Tris-Puffer (pH 8.5) durchgeführt, dem 50 mM  $\text{MgCl}_2$  und 0.2 mM Dithiothreitol zugesetzt sind. Zu dem Puffer werden CTP und eine äquimolare Menge der entsprechenden Neuraminsäure gegeben. Der pH-Wert wird nochmals überprüft und bei Bedarf erneut mit 1 N NaOH auf pH 8.5 eingestellt. Anschließend werden die anorganische Pyrophosphatase und CMP-Sialat-Synthetase zugesetzt und der Ansatz für mehrere Stunden in einem Glasreaktor, ausgestattet mit einem pH-Titrator und einen Thermostaten, bei 30°C inkubiert.

$\text{Mg}^{2+}$ -Ionen, die durch das bei der Reaktion entstehende Phosphat und über das Enzym eingeführte Ammoniumionen als schwerlösliches Mg-Ammonium-Phosphat gefällt und somit dem Reaktionsgemisch entzogen werden, müssen 1-2 Mal nachdosiert werden (1.7 M  $\text{MgCl}_2$ -Stammlösung), um die Enzymaktivität aufrecht zu erhalten. Nach 2-6 h ist in der Regel ein vollständiger Umsatz erreicht.

Zur Aufarbeitung des Ansatzes wird das Enzym durch 5 minütiges Erhitzen der Reaktionsmischung bei 60°C denaturiert, ausgefallenes Protein und Phosphat abzentrifugiert und das Produkt durch Zugabe von EtOH (9:1 v/v) bei -20°C ausgefällt, 15 min bei 9000 g abzentrifugiert und getrocknet. Eine weitere Aufreinigung erreicht man bei Bedarf entweder durch wiederholte fraktionierte EtOH-Fällung oder durch Chromatographie an BioGel P-2 (2.5 x 50 cm).

**AAV 11: Galactosyltransfer**

Zu 488  $\mu\text{L}$  einer Stammlösung aus 10 mg  $\text{MnCl}_2$ , 10 mg  $\text{NaN}_3$  und 20 mg BSA in 20 mL Natriumcacodylat-Puffer (50 mM, pH 7.8) werden 1 Äquivalent des entsprechenden Substrats (65-70  $\mu\text{mol}$  in 270  $\mu\text{L}$  DMSO), 41-44 mg 65-70  $\mu\text{mol}$  UDP-Glc, 500 mU  $\beta$ -1,4-GalT (in 100  $\mu\text{L}$  Stammlösung), 2 U UDP-Gal-4-epimerase (in 10  $\mu\text{L}$  Stammlösung) und 45 U alkalische Phosphatase (in 2  $\mu\text{L}$  Stammlösung) gegeben. Der pH-Wert wird nochmals überprüft und bei Bedarf erneut mit einer 0.1 N NaOH-Lösung auf pH 7.8 eingestellt.

Der durch das bei der Reaktion entstehende Phosphat immer wieder abfallende pH-Wert wird durch Zutropfen von 0.1 N NaOH bei einem konstanten pH-Wert von 7.8 gehalten und der Verlauf der Reaktion dünnschichtchromatographisch überprüft. Wird kein vollständiger oder weiterer Umsatz der Edukte beobachtet, wird die Reaktion spätestens nach 6 d abgebrochen.

Zur Aufreinigung werden die Ansätze auf eine mit C18-Material gepackte Säule, die zuvor mit mehreren Säulenvolumina MeOH und Wasser äquilibriert worden ist, aufgetragen. Nachdem Puffersalze, Enzyme und alle sonstigen hydrophilen Substanzen mit Wasser von der Säule gespült worden sind, kann das über seine hydrophobe Gruppe gebundene Produkt mit MeOH (>25%) sehr sauber eluiert werden.

### **AAV 12: Sialyltransfer**

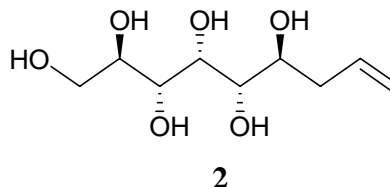
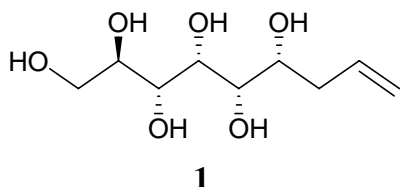
Zu 4 mL Natriumcacodylat-Puffer (50 mM, pH 7.8) werden 30-40 µmol der entsprechenden CMP-Neuraminsäure, 19.6 mg (26 µmol) Lactosid (in 100 µL DMSO gelöst), 10 µmol MnCl<sub>2</sub> (25 µL einer 0.2 M Stammlösung), 30 µmol NaN<sub>3</sub> (30 µL einer 1 M Stammlösung), 600 µL α-2,3-Sialyltransferase (Rohextrakt) und 25 U alkalische Phosphatase gegeben. Die angegebenen Mengen an Zuckernucleotid und Enzymen werden jedoch nicht gleich zu Beginn der Reaktion komplett, sondern in 2-3 Portionen unterteilt von 2-6 Tagen zugesetzt. Der durch das bei der Reaktion entstehende Phosphat immer wieder abfallende pH-Wert wird durch Zugabe von verdünnter 0.1 N NaOH bei einem konstanten Wert von 7.8 gehalten. Die Reaktion wird spätestens nach 8 Tagen abgebrochen.

Zur Aufarbeitung wird der Ansatz für 5 min bei 60°C erhitzt, das denaturierte Enzym und ausgefallenes Phosphat abzentrifugiert. Das Filtrat wird im Vakuum eingeeengt, der verbleibende Feststoff in 1-2 mL Wasser aufgenommen und über eine Biogel P 2 fine Säule (2.5 x 50 cm) chromatographiert. Die Produktfraktionen werden mit Hilfe von Dünnschichtchromatographie detektiert und erneut eingeeengt. Bei Bedarf wird bei einer unvollständigen Aufreinigung erneut über Biogel bzw. Flash-Kieselgel chromatographiert. Nach Einengen der Produktfraktionen wird der erhaltene Feststoff erneut in wenig Wasser aufgenommen und lyophilisiert.

## 5.3 Synthesen

**4,5,6,7,8,9-Hexa-hydroxy-D-glycero-D-ido-non-1-en (1)**

**4,5,6,7,8,9-Hexa-hydroxy-D-glycero-D-gulo-non-1-en (2)**



Indium-vermittelte Allylierung von D-Glucose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / Wasser**:

903 mg (5 mmol) D-Glucose

1.21 g (10 mmol, 2 Äq.) Allylbromid + 605 mg (5 mmol, 1 Äq. nach 21 h)

1.14 g (10 mmol, 2 Äq.) Indium + 285 mg (5 mmol, 1 Äq. nach 21 h)

in 40 mL Ethanol, 10 mL Wasser

Gesamte Reaktionsdauer : 44 h

Ausbeute: 1.01 g (4.55 mmol, 91 %) Diastereomerengemisch **1**(*threo*)/**2**(*erythro*\*) 5:1 als gelblicher Sirup

Ansatz in **EtOH / 0.1 M HCl<sub>aq</sub>**:

903 mg (5 mmol) D-Glucose

1.21 g (10 mmol, 2 äq.) Allylbromid + 605 mg (5 mmol, 1 äq. nach 21 h)

1.14 g (10 mmol, 2 äq.) Indium + 285 mg (5 mmol, 1 äq. nach 21 h)

in 40 mL Ethanol, 10 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>

Gesamte Reaktionsdauer : 44 h

Ausbeute: 1.04 g (4.68 mmol, 94 %) Diastereomerengemisch **1**(*threo*)/**2**(*erythro*\*) 5:1 als farbloser Schaum

$R_f = 0.69$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

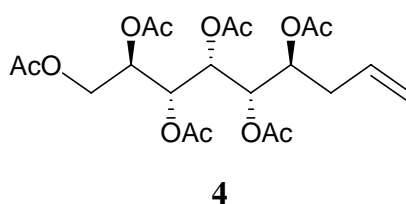
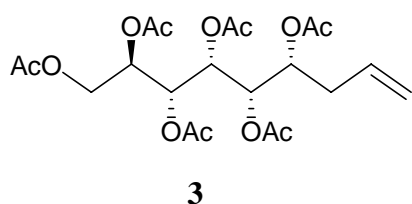
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.90 (dddd, 1 H, 8-H), 5.19 (dd, 1 H, 9-H<sub>E</sub>), 5.15 (dd, 1 H, 9-H<sub>Z</sub>), 3.97 (dd, 1 H, 4-H), 3.85 (m, 1 H, 6-H), 3.83 (dd, 1 H, 1-Ha), 3.79 (dd, 1 H, 2-H), 3.72 (ddd, 1 H, 3-H), 3.68 (dd, 1 H, 1-5), 3.66 (dd, 1 H, 1-Hb), 2.47 (m, 1 H, 7\*-Ha), 2.44-2.31 (m, 2 H, 7-Ha, 7-Hb), 2.25 (m, 1 H, 7\*-Hb);  $J_{1a,2} = 3.0$  Hz,  $J_{1b,2} = 6.0$  Hz,  $J_{1a,1b} = 11.6$  Hz,  $J_{2,3} = 8.0$  Hz,  $J_{3,4} = 3.4$  Hz,  $J_{4,5} = 6.0$  Hz,  $R_f = 0.48$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1).

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 137.7 (C-8), 120.5 (C-9), 76.7 (C-5), 74.0 (C-2, C-3), 73.3 (C-6), 72.8 (C-4), 65.7 (C-1), 40.2 (C-7).

C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>      222.24

**4,5,6,7,8,9-Hexa-acetyloxy-D-glycero-D-ido-non-1-en (3)**

**4,5,6,7,8,9-Hexa-acetyloxy-D-glycero-D-gulo-non-1-en (4)**



Acetylierung von **1/2** nach **AAV 2**

Ansatz:            100 mg (0.45 mmol) Diastereomerengemisch **1**(*threo*)/**2**(*erythro*\*) 5:1

Ausbeute:        143 mg (0.30 mmol, 67 %) Diastereomerengemisch **3**(*threo*)/**4**(*erythro*\*) 5:1  
als farbloser Sirup

$R_f = 0.78$  (AcOEt/n-Hexan/CHCl<sub>3</sub> 7:2:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 5.69 (dddd, 1 H, 8-H), 5.43 (dd, 1 H, 3-H), 5.33 (dd, 1 H, 4-H), 5.31 (dd, 1 H, 6-H), 5.12 (dd, 1 H, 5-H), 5.09 (m, 2 H, 9-H<sub>E</sub>, 9-H<sub>Z</sub>), 5.00 (ddd, 1 H, 2-H), 4.25 (dd, 1 H, 1-Ha), 4.13 (dd, 1 H, 1-Hb), 2.28 (dd, 2 H, 7-Ha, 7-Hb);  $J_{1a,2} = 2.8$  Hz,  $J_{1b,2} = 4.9$  Hz,  $J_{1a,1b} = 12.5$  Hz,  $J_{2,3} = 8.2$  Hz,  $J_{3,4} = 2.6$  Hz,  $J_{4,5} = 8.4$  Hz,  $J_{5,6} = 3.0$  Hz.

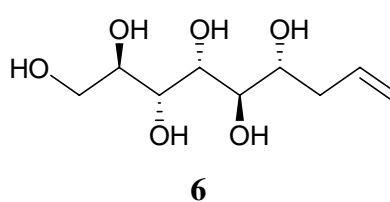
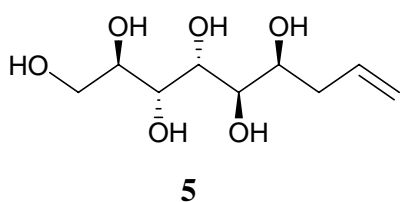


$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 170.6–169.7 ( $\text{COCH}_3$ ), 132.2 (C-8), 118.3 (C-9), 70.6 (C-5), 70.2 (C-6), 68.6–68.1 (C-2, C-3, C-4), 61.5 (C-1), 35.5 (C-7), 20.8–20.5 ( $\text{COCH}_3$ ).

$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_{12}$  474.46

**4,5,6,7,8,9-Hexa-hydroxy-D-glycero-D-galacto-non-1-en (5)**

**4,5,6,7,8,9-Hexa-hydroxy-D-glycero-D-talo-non-1-en (6)**



Indium-vermittelte Allylierung von D-Mannose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / Wasser**:

903 mg (5 mmol) D-Mannose  
1.21 g (10 mmol, 2 Äq.) Allylbromid  
1.14 g (10 mmol, 2 Äq.) Indium  
in 40 mL Ethanol, 10 mL Wasser  
Gesamte Reaktionsdauer : 5.5 h

Ausbeute: 990 mg (4.46 mmol, 89 %) Diastereomergemisch **5**(*threo*)/**6**(*erythro*\*) 6:1  
als farbloser Feststoff

Ansatz in **EtOH / 0.1 M HCl<sub>aq</sub>**:

903 mg (5 mmol) D-Mannose  
1.21 g (10 mmol, 2 Äq.) Allylbromid + 605 mg (5 mmol, 1 Äq., nach 21 h)  
1.14 g (10 mmol, 2 Äq.) Indium + 285 mg (5 mmol, 1 Äq. nach 21 h)  
in 40 mL Ethanol, 10 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>  
Gesamte Reaktionsdauer: 6 h

Ausbeute: 1.01 g (4.55 mmol, 91 %) Diastereomerengemisch **5**(*threo*)/**6**(*erythro*\*) 6:1 als farbloser Feststoff

$R_f = 0.69$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

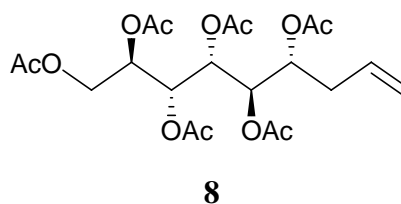
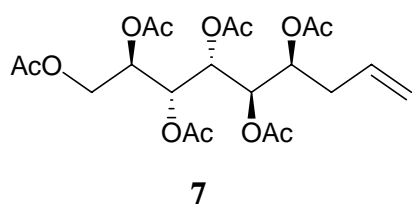
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.91$  (dddd, 1 H, 8-H),  $5.20$  (dd, 1 H, 9-H<sub>E</sub>),  $5.15$  (dd, 1 H, 9-H<sub>Z</sub>),  $3.99$  (ddd, 1 H, 6-H),  $3.92$  (dd, 1 H, 4-H),  $3.87$  (dd, 1 H, 1-Ha),  $3.83$  (dd, 1 H, 3-H),  $3.77$  (ddd, 1 H, 2-H),  $3.68$  (dd, 1 H, 1-Hb),  $3.60$  (dd, 1 H, 5-H),  $2.45$  (m, 1 H, 7\*-Ha),  $2.45$ - $2.32$  (m, 2 H, 7-Ha, 7-Hb),  $2.32$ - $2.22$  (m, 1 H, 7\*-Hb);  $J_{1a,2} = 2.8$  Hz,  $J_{1b,2} = 6.8$  Hz,  $J_{1a,1b} = 11.8$  Hz,  $J_{2,3} = 3.0$  Hz,  $J_{3,4} = 10.0$  Hz,  $J_{4,5} = 1.1$  Hz,  $J_{5,6} = 9.3$  Hz,  $J_{6,7a} = 1.4$  Hz,  $J_{6,7b} = 6.0$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 138.3$  (C-8),  $120.3$  (C-9),  $73.9$  (C-2, C-5),  $72.4$  (C-3, C-6),  $71.4$  (C-4),  $66.1$  (C-1),  $40.5$  (C-7).

C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub> 222.24

**4,5,6,7,8,9-Hexa-acetyloxy-D-glycero-D-galacto-non-1-en (7)**

**4,5,6,7,8,9-Hexa-acetyloxy-D-glycero-D-talo-non-1-en (8)**



Acetylierung von **5/6** nach **AAV 2**

Ansatz: 45 mg (0.20 mmol) Diastereomerengemisch **5**(*threo*)/**6**(*erythro*) 6:1

Ausbeute: 90 mg (0.19 mmol, 94 %) Diastereomerengemisch **7**(*threo*)/**8**(*erythro*\*) 6:1 als brauner Sirup

$R_f = 0.78$  (AcOEt/n-Hexan/CHCl<sub>3</sub> 7:2:1)

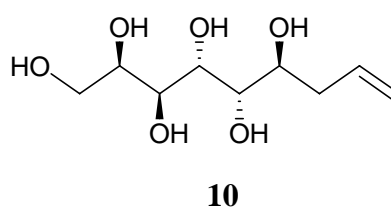
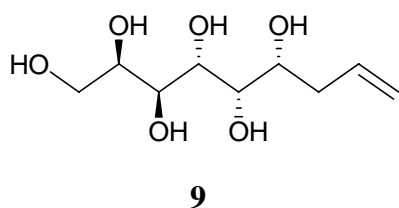
**$^1\text{H-NMR}$  (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 5.70 (dddd, 1 H, 8-H), 5.47 (dd, 1 H, 4-H), 5.42 (dd, 1 H, 3\*-H), 5.36 (dd, 1 H, 4\*-H), 5.33 (dd, 1 H, 3-H), 5.19 (m, 1 H, 5\*-H), 5.18 (dd, 1 H, 5-H), 5.08 (m, 1 H, 9- $\text{H}_\text{E}$ ), 5.05 (m, 1 H, 9- $\text{H}_\text{Z}$ ), 4.99 (ddd, 1 H, 2-H), 4.96 (dd, 1 H, 6-H), 4.92 (ddd, 1 H, 6\*-H), 4.22 (dd, 1 H, 1- $\text{H}_\text{a}$ ), 4.02 (dd, 1 H, 1- $\text{H}_\text{b}$ ), 2.50 (m, 1 H, 7\*- $\text{H}_\text{a}$ ), 2.35 (m, 1 H, 7\*- $\text{H}_\text{b}$ ), 2.30-2.15 (m, 2 H, 7- $\text{H}_\text{a}$ , 7- $\text{H}_\text{b}$ );  $J_{1\text{a},2} = 2.9$  Hz,  $J_{1\text{b},2} = 5.5$  Hz,  $J_{1\text{a},1\text{b}} = 12.5$  Hz,  $J_{2,3} = 8.7$  Hz,  $J_{3,4} = 1.9$  Hz,  $J_{4,5} = 9.9$  Hz,  $J_{5,6} = 2.0$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 170.5–169.6 ( $\text{COCH}_3$ ), 133.2 (C-8\*), 132.6 (C-8), 118.4 (C-9), 118.0 (C-9\*), 71.6 (C-6\*), 69.7 (C-6), 69.2 (C-5), 68.3 (C-2), 68.1 (C-3\*), 67.9 (C-4\*), 67.6 (C-3), 67.1 (C-4), 61.9 (C-1), 35.7 (C-7), 32.9 (C-7\*), 20.9-20.6 ( $\text{COCH}_3$ ).

$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_{12}$  474.46

**4,5,6,7,8,9-Hexa-hydroxy-D-glycero-L-gluco-non-1-en (9)**

**4,5,6,7,8,9-Hexa-hydroxy-D-glycero-L-manno-non-1-en (10)**



Indium-vermittelte Allylierung von D-Galactose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / Wasser**:

361 mg (2 mmol) D-Galactose  
484 mg (4 mmol, 2 Äq.) Allylbromid  
460 mg (4 mmol, 2 Äq.) Indium  
in 40 mL Ethanol, 10 mL Wasser  
Gesamte Reaktionsdauer: 5 h

Ausbeute: 350 mg (1.58 mmol, 79 %) Diastereomerengemisch **9**(*threo*)/**10**(*erythro*\*) 7:1  
als farbloser Feststoff

Ansatz in **EtOH / 0.1 M HCl<sub>aq</sub>**:

361 mg (2 mmol) D-Galactose  
484 mg (4 mmol, 2 Äq.) Allylbromid  
460 mg (4 mmol, 2 Äq.) Indium  
in 40 mL Ethanol, 10 mL / 0.1 M HCl<sub>aq</sub>  
Gesamte Reaktionsdauer: 5 h

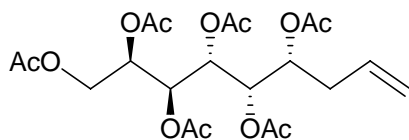
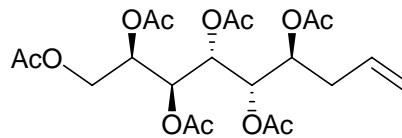
Ausbeute: 420 mg (1.89 mmol, 95 %) Diastereomerengemisch **9**(*threo*)/**10**(*erythro*\*) 7:1  
als farbloser Feststoff

$R_f = 0.69$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.91 (dddd, 1 H, 8-H), 5.20 (dd, 1 H, 9-H<sub>E</sub>), 5.16 (dd, 1 H, 9-H<sub>Z</sub>), 3.96 (ddd, 1 H, 2-H), 3.87 (ddd, 1 H, 6-H), 3.79 (dd, 1 H, 4-H), 3.76 (dd, 1 H, 5-H), 3.70 (m, 3 H, 1-H<sub>a</sub>, 1-H<sub>b</sub>, 3-H), 2.58 (ddd, 1 H, 7\*-H<sub>a</sub>), 2.44 (ddd, 1 H, 7-H<sub>a</sub>), 2.26 (ddd, 2 H, 7\*-H<sub>b</sub>, 7-H<sub>b</sub>);  $J_{1a,2} = 1.5$  Hz,  $J_{1b,2} = 7.0$  Hz,  $J_{1a}, J_{2,3} = 7.0$  Hz,  $J_{3,4} = 9.1$  Hz,  $J_{4,5} = 1.5$  Hz,  $J_{5,6} = 6.4$  Hz,  $J_{6,7a} = 4.3$  Hz,  $J_{6,7b} = 10.7$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 135.1 (C-8), 118.3 (C-9), 72.7 (C-6), 72.2 (C-5), 70.6 (C-2, C-4), 70.1 (C-3), 63.8 (C-1), 37.5 (C-7).

C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>      222.24

**4,5,6,7,8,9-Hexa-acetyloxy-D-glycero-L-gluco-non-1-en (11)****4,5,6,7,8,9-Hexa-acetyloxy-D-glycero-L-manno-non-1-en (12)****11****12**

Acetylierung von **9/10** nach **AAV 2**

Ansatz: 58 mg (0.26 mmol) Diastereomerengemisch **9**(*threo*)/**10**(*erythro*) 7:1

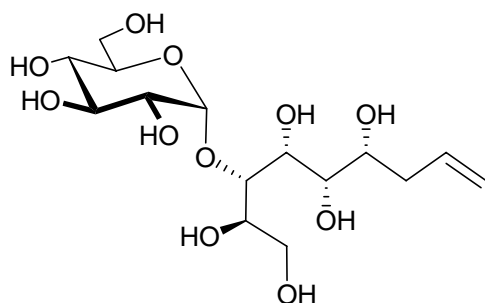
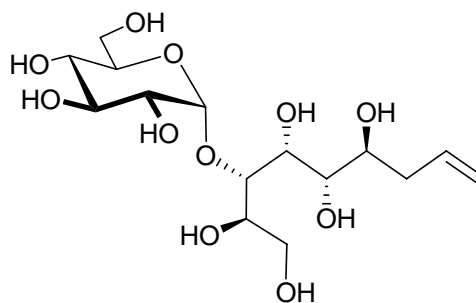
Ausbeute: 125 mg (0.26 mmol, 100 %) Diastereomerengemisch **11**(*threo*)/**12**(*erythro*\*) 7:1 als brauner Sirup

$R_f = 0.76$  (AcOEt/n-Hexan/ $\text{CHCl}_3$  7:2:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 5.72$  (dddd, 1 H, 8-H), 5.37 (dd, 1 H, 4-H), 5.23 (m, 2 H, 2-H, 3-H), 5.21 (dd, 1 H, 5-H), 5.13 (dd, 1 H, 9- $\text{H}_\text{E}$ ), 5.11 (m, 1 H, 9- $\text{H}_\text{Z}$ ), 4.95 (dd, 1 H, 6-H), 4.29 (dd, 1 H, 1- $\text{H}_\text{a}$ ), 3.84 (dd, 1 H, 1- $\text{H}_\text{b}$ ), 2.50 (ddd, 1 H, 7- $\text{H}_\text{a}$ ), 2.33 (ddd, 1 H, 7- $\text{H}_\text{b}$ );  $J_{1\text{a},2} = 4.5$  Hz,  $J_{1\text{b},2} = 7.0$  Hz,  $J_{1\text{a},1\text{b}} = 11.7$  Hz,  $J_{3,4} = 9.3$  Hz,  $J_{4,5} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6} = 8.1$  Hz,  $J_{6,7\text{a}} = 3.8$  Hz,  $J_{6,7\text{b}} = 7.4$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 170.4\text{--}169.6$  ( $\text{COCH}_3$ ), 132.7 (C-8\*), 132.2 (C-8), 118.8 (C-9), 118.3 (C-9\*), 70.7 (C-6), 69.9 (C-5), 68.0, 67.7 (C-2, C-3), 67.4 (C-4), 62.3 (C-1), 35.5 (C-7\*), 35.2 (C-7), 21.0-20.6 ( $\text{COCH}_3$ ).

$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_{12}$  474.46

**7-O- $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-4,5,6,8,9-penta-hydroxy-D-glycero-D-ido-non-1-en (13)****7-O- $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-4,5,6,8,9-penta-hydroxy-D-glycero-D-gulo-non-1-en (14)****13****14****Indium-vermittelte Allylierung von D-Maltose nach AAV 1****Ansatz in EtOH / Wasser**

1.081 g (3 mmol) D-Maltose

4.355 g (36 mmol, 12 Äq.) Allylbromid + 2.178 g (18 mmol, 6 Äq.) nach 4 d

2.052 g (18 mmol, 6 Äq.) Indium + 345 mg (3 mmol, 1 Äq.) nach 4 d

in 125 mL Ethanol, 25 mL Wasser

Rühren bei 50°C

Gesamte Reaktionsdauer: 8 d

Ausbeute: 930 mg (2.42 mmol, 81 %) Diastereomerengemisch **13**(*threo*)/**14**(*erythro*\*) 7:1  
als farbloser Feststoff

$R_f = 0.72$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

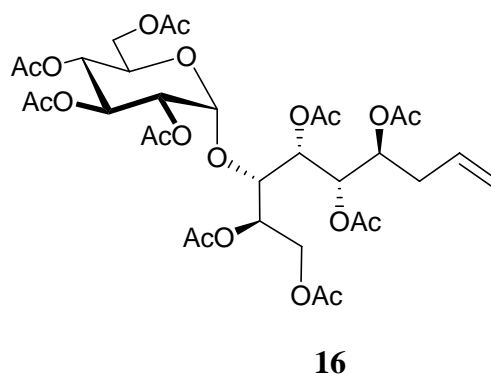
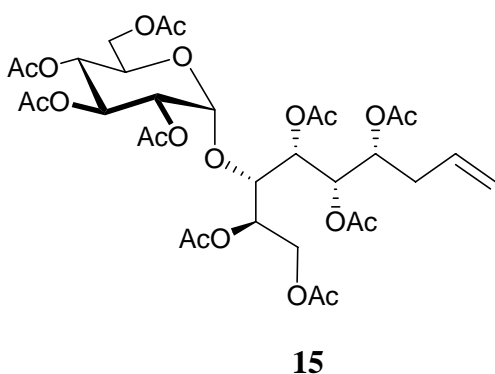
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.91 (dddd, 1 H, 8-H), 5.19 (dd, 1 H, 9-H<sub>E</sub>), 5.16 (dd, 1 H, 9-H<sub>Z</sub>), 5.10 (d, 1 H, 1'-H), 4.02, 1 H, 4-H), 3.89 (ddd, 1 H, 2-H), 3.87 (m, 2 H, 6-H, 5'-H), 3.86 (dd, 1 H, 6'-Ha), 3.78 (dd, 2 H, 1-Ha, 6'-Hb), 3.74 (dd, 1 H, 3'-H), 3.68 (m, 2 H, 1-Hb, 5-H), 3.58 (dd, 1 H, 2'-H), 3.45 (dd, 1 H, 4'-H), 2.41 (ddd, 1 H, 7-Ha), 2.29 (ddd, 1 H, 7-Hb);  $J_{1a,2} = 4.1$  Hz,  $J_{1b,2} = 7.6$  Hz,  $J_{1a,1b} = 12.0$  Hz,  $J_{2,3} = 3.8$  Hz,  $J_{3,4} = 5.2$  Hz,  $J_{4,5} = 3.8$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.6$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.6$  Hz,  $J_{4',5'} = 9.4$  Hz,  $J_{5',6'a} = 2.3$  Hz,  $J_{5',6'b} = 4.4$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.2$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 137.5 (C-8), 120.6 (C-9), 103.4 (C-1'), 84.7 (C-3), 75.7, 75.6 (C-5 / C-3'), 75.3, (C-2, C-6 / C-5'), 74.5 (C-2'), 74.1 (C-5' / C-6), 73.9 (C-4), 72.1 (C-4'), 65.1 (C-1), 63.2 (C-6').

$\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$  384.38

**4,5,6,8,9-Penta-acetyloxy-7-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyloxy)-D-glycero-D-ido-non-1-en (15)**

**4,5,6,8,9-Penta-acetyloxy-7-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyloxy)-D-glycero-D-gulo-non-1-en (16)**



Acetylierung von **13/14** nach **AAV 2**

Ansatz: 160 mg (0.42 mmol) Diastereomerengemisch **13**(*threo*)/**14**(*erythro*) 7:1

Ausbeute: 11 mg (0.015 mmol, 3.6 %) reines Diastereomer **15**(*threo*) als gelber Sirup  
56 mg (0.073 mmol, 18 %) Diastereomerengemisch **15**(*threo*)/**16**(*erythro*\*) 7:1 als gelber Sirup

$R_f$  = 0.56 (AcOEt/n-Hexan/ $\text{CHCl}_3$  7:2:1) **15**

$R_f$  = 0.56 + 0.63 (AcOEt/n-Hexan/ $\text{CHCl}_3$  7:2:1) **15/16**

**$^1\text{H}$ -NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 5.70 (dddd, 1 H, 8-H), 5.40 (dd, 1 H, 4-H), 5.38 (dd, 1 H, 3'-H), 5.33 (dd, 1 H, 3-H), 5.27 (d, 1 H, 1'-H), 5.12 (m, 4 H, 2-H, 4-H, 9-H<sub>E</sub>, 9-H<sub>Z</sub>), 5.07 (dd,

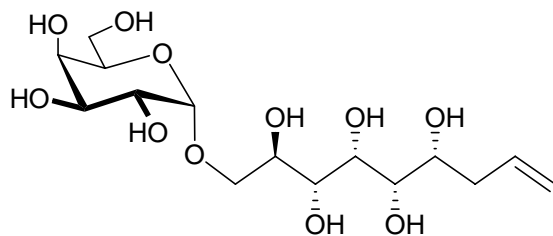
1 H, 4'-H), 4.93 (dd, 1 H, 2'-H), 4.57 (dd, 1 H, 1-Ha), 4.30 (dd, 1 H, 6'-Ha), 4.19 (m, 1 H, 5'-Ha), 4.17 (dd, 1 H, 1-Hb), 4.08 (dd, 1 H, 6'-Hb), 4.06 (dd, 1 H, 5-H), 2.41 (m, 1 H, 7-Ha), 2.30 (m, 1 H, 7-Hb), 2.12-2.00 (s, 27 H, OCOCH<sub>3</sub>);  $J_{1a,2} = 3.3$  Hz,  $J_{1b,2} = 6.4$  Hz,  $J_{1a,1b} = 12.4$  Hz,  $J_{2,3} = 5.2$  Hz,  $J_{3,4} = 5.2$  Hz,  $J_{4,5} = 5.2$  Hz,  $J_{5,6} = 3.8$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.8$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.4$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.8$  Hz,  $J_{4',5'} = 9.8$  Hz,  $J_{5',6'a} = 4.4$  Hz,  $J_{5',6'b} = 2.3$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.1$  Hz.

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 170.9$ - $169.2$  (9\*OCOCH<sub>3</sub>), 132.5 (C-8), 119.3 (C-9), 96.8 (C-1'), 75.9 (C-3), 71.8, 71.0, 70.9, 70.5, 70.1 (C-2, C-4, C-6, C-2', C-3'), 68.7, 68.5 (C-4', C-5'), 62.2, 62.0 (C-1, C-6'), 35.8 (C-7), 21.4-20.8 (9\*OCOCH<sub>3</sub>).

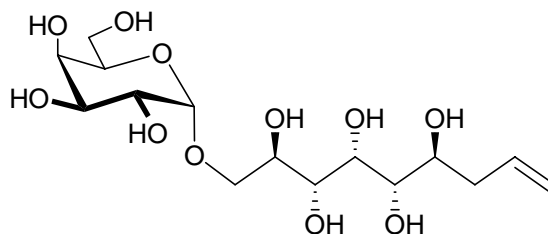
C<sub>33</sub>H<sub>46</sub>O<sub>20</sub> 762.71

**9-O- $\alpha$ -D-Galactopyranosyloxy-4,5,6,7,8-penta-hydroxy-D-glycero-D-ido-non-1-en (17)**

**9-O- $\alpha$ -D-Galactopyranosyloxy-4,5,6,7,8-penta-hydroxy-D-glycero-D-gulo-non-1-en (18)**



**17**



**18**

Indium-vermittelte Allylierung von D-Melibiose nach **AAV 1**

Ansatz in EtOH / 0.1 M HCl<sub>aq</sub>.

1.73 g (5 mmol) D-Melibiose

3.641 g (30 mmol, 6 Äq.) Allylbromid

1.724 g (15 mmol, 3 Äq.) Indium

in 100 mL Ethanol, 20 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>.

Ultraschallbad

Gesamte Reaktionsdauer: 22 h



Ausbeute: 1.89 g (4.92 mmol, 98 %) Diastereomerengemisch **17**(*threo*)/**18**(*erythro*\*) 6:1  
als farbloser Feststoff erhalten

$R_f = 0.71$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

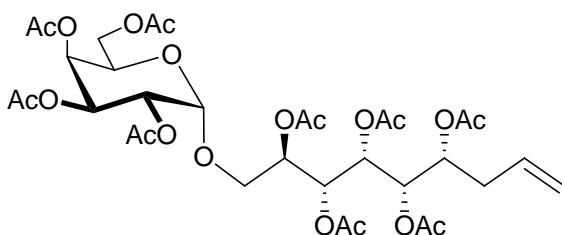
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.90$  (dddd, 1 H, 8-H), 5.19 (dd, 1 H, 9-H<sub>E</sub>), 5.16 (dd, 1 H, 9-H<sub>Z</sub>), 5.08 (d, 1 H, 1'-H), 3.99 (m, 3 H, 4-H, 4'-H, 5'-H), 3.95-3.88 (m, 3 H, 2-H, 3-H, 3'-H), 3.84 (m, 2 H, 6-H, 2'-H), 3.78 (dd, 1 H, 1-Ha), 3.75 (d, 2 H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.68 (m, 2 H, 1-Hb, 5-H), 3.68 (m, 2 H, 1-Hb, 5-H), 2.546 (dm, 1 H, 7\*-Ha), 2.44-2.30 (m, 2 H, 7-Ha, 7-Hb), 2.30-2.20 (m, 1 H, 7\*-Hb);  $J_{1a,2} = 2.1$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.7$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 137.6$  (C-8), 120.5 (C-9), 101.2 (C-1'), 76.7 (C-5), 73.7 (C-5'), 73.5, 73.2, 72.2, 71.5 (C-2, C-3, C-4, C-6), 72.3 (C-3'), 72.0 (C-4'), 71.2 (C-2'), 71.4 (C-1), 63.9 (C-6'), 40.2 (C-7).

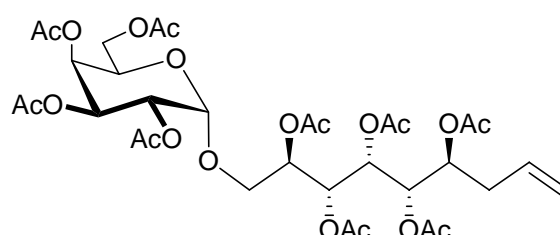
C<sub>15</sub>H<sub>28</sub>O<sub>11</sub> 384.38

**4,5,6,7,8-Penta-acetyloxy-9-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyloxy)-D-glycero-D-ido-non-1-en (19)**

**4,5,6,7,8-Penta-acetyloxy-9-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyloxy)-D-glycero-D-gulo-non-1-en (20)**



**19**



**20**

Acetylierung von **17/18** nach AAV 2

Ansatz: 90 mg (0.23 mmol) Diastereomerengemisch **17**(*threo*)-**18**(*erythro*) 6:1

Ausbeute: 41 mg (0.054 mmol, 23 %) Diastereomerengemisch **19**(*threo*)-**20**(*erythro*\*) 7:1  
als gelber Sirup

$R_f = 0.71$  (AcOEt/n-Hexan/ $\text{CHCl}_3$  7:2:1) Diastereomerengemisch

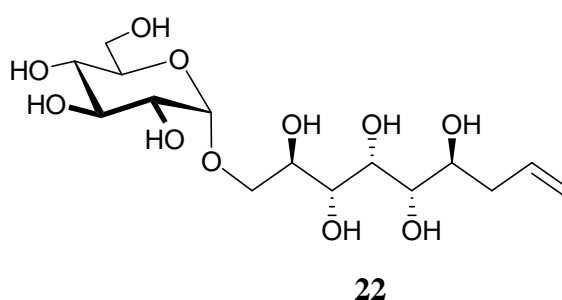
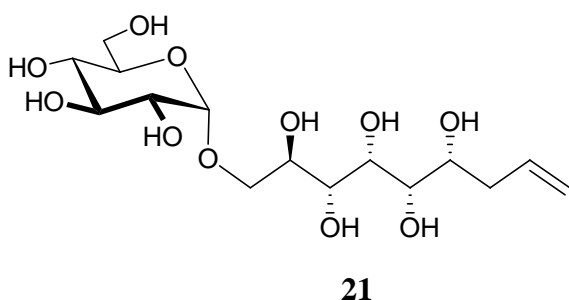
**$^1\text{H-NMR}$  (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 5.67$  (m, 1 H, 8-H), 5.45 (dd, 1 H, 4'-H), 5.16 (dd, 1 H, 9-H<sub>Z</sub>), 5.42 (dd, 1 H, 3-H), 5.31 (m, 2 H, 4-H, 3'-H), 5.20 (ddd, 1 H, 6-H), 5.13-5.04 (m, 5 H, 5-H, 9-H<sub>E</sub>, 9-H<sub>Z</sub>, 1'-H, 2'-H), 4.98 (m, 2 H, 2-H, 6\*-H), 4.19 (dd, 1 H, 5'-H), 4.11-4.03 (m, 2 H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.69 (dd, 2 H, 1-Ha), 3.61 (dd, 1 H, 1-Hb), 2.36 (m, 2 H, 7\*-Ha, 7\*-Hb), 2.27 (m, 2 H, 7-Ha, 7-Hb), 2.13-1.96 (s, 27 H,  $\text{COCH}_3$ );  $J_{1a,2} = 5.5$  Hz,  $J_{1b,2} = 3.8$  Hz,  $J_{1a,1b} = 11.5$  Hz,  $J_{2,3} = 3.2$  Hz,  $J_{3,4} = 7.4$  Hz,  $J_{3',4'} = 3.4$  Hz,  $J_{4',5'} = 1.3$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 172.6$ -171.5 ( $\text{COCH}_3$ ), 134.3 (C-8), 120.8 (C-9), 98.3 (C-1'), 72.5-69.5 (C-2, C-3, C-4, C-6, C-2', C-3', C-4'), 68.8 (C-5'), 67.7 (C-1), 63.7 (C-6'), 37.4 (C-7), 22.7-22.4 ( $\text{COCH}_3$ ).

$\text{C}_{33}\text{H}_{46}\text{O}_{20}$  762.71

**9-O- $\alpha$ -D-Glucopyranosyloxy-4,5,6,7,8-penta-hydroxy-D-glycero-D-ido-non-1-en (21)**

**9-O- $\alpha$ -D-Glucopyranosyloxy-4,5,6,7,8-Penta-hydroxy-D-glycero-D-gulo-non-1-en (22)**



Indium-vermittelte Allylierung von D-Isomaltose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / 0.1 M  $\text{HCl}_{\text{aq}}$** .

86 mg (0.25 mmol) D-Isomaltose

242 mg (2 mmol, 8 Äq.) Allylbromid + 121 mg (1 mmol, 4 Äq.) nach 13 d

115 mg (1 mmol, 4 Äq.) Indium + 115 mg (1 mmol, 1 Äq.) nach 3 d + 58 mg  
(0.5 mmol, 2 Äq.) nach 11 d

in 5 mL Ethanol, 1 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>.

Ultraschallbad

Gesamte Reaktionsdauer: 19 d

Ausbeute: 88 mg (0.23 mmol, 92 %) Diastereomerengemisch **21**(*threo*)-**22**(*erythro*\*) 6:1  
als farbloser Sirup

$R_f = 0.70$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

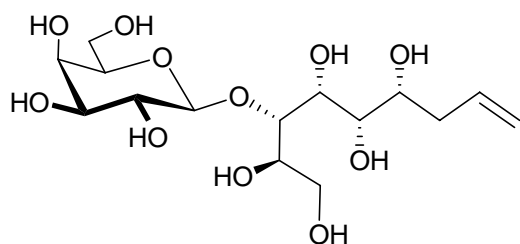
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.90$  (dddd, 1 H, 8-H),  $5.20$  (dd, 1 H, 9-H<sub>E</sub>),  $5.16$  (dd, 1 H, 9-H<sub>Z</sub>),  $5.06$  (d, 1 H, 1'-H),  $4.00$  (dd, 1 H, 4-H),  $3.93$  (m, 1 H, 1-Ha),  $3.85$  (m, 3 H, 6-H, 5'-H, 6'-Ha),  $3.78$  (m, 2 H, 2-H, 3-H),  $3.75$  (m, 2 H, 3'-H, 6'-Hb),  $3.69$  (dd, 2 H, 1-Hb, 5-H),  $3.58$  (dd, 1 H, 2'-H),  $3.43$  (dd, 1 H, 4'-H),  $2.47$  (dm, 1 H, 7\*-Ha),  $2.43$ - $2.32$  (m, 2 H, 7-Ha, 7-Hb),  $2.30$ - $2.20$  (m, 1 H, 7\*-Hb);  $J_{1b,2} = 3.4$  Hz,  $J_{3,4} = 2.0$  Hz,  $J_{4,5} = 6.0$  Hz,  $J_{8,9E} = 17.3$  Hz,  $J_{8,9Z} = 10.2$  Hz,  $J_{9E,9E} = 1.7$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.7$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.8$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.4$  Hz,  $J_{4',5'} = 9.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 137.7$  (C-8),  $120.6$  (C-9),  $101.1$  (C-1'),  $76.8$  (C-5),  $76.0$  (C-3'),  $74.6$  (C-5'),  $74.3$  (C-2'),  $73.5$ ,  $73.3$ ,  $72.6$ ,  $72.3$  (C-2, C-3, C-4, C-6),  $72.4$  (C-4'),  $71.5$  (C-1),  $63.4$  (C-6'),  $40.3$  (C-7).

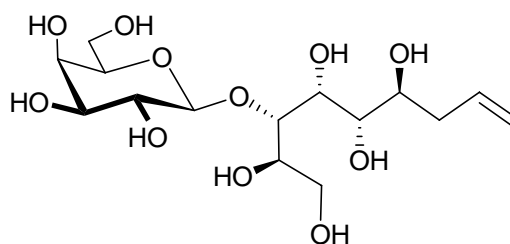
C<sub>15</sub>H<sub>28</sub>O<sub>11</sub> 384.38

**7-O- $\beta$ -D-Galactopyranosyloxy-4,5,6,8,9-penta-hydroxy-D-glycero-D-ido-non-1-en (23)**

**7-O- $\beta$ -D-Galactopyranosyloxy-4,5,6,8,9-penta-hydroxy-D-glycero-D-gulo-non-1-en (24)**



**23**



**24**

Indium-vermittelte Allylierung von D-Lactose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / 0.1 M HCl<sub>aq</sub>**.

342 mg (1 mmol) D-Lactose

1.452 g (12 mmol, 12 Äq.) Allylbromid + 726 mg (6 mmol, 6 Äq.) nach 4 d

690 mg (6 mmol, 6 Äq.) Indium + 230 mg (2 mmol, 2 Äq.) nach 4 d

in 20 mL Ethanol, 4 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>.

Rühren bei Raumtemperatur

Gesamte Reaktionsdauer: 7 d

Ansatz in **EtOH / Wasser**

342 mg (1 mmol) D-Lactose

1.452 g (12 mmol, 12 Äq.) Allylbromid + 726 mg (6 mmol, 6 Äq.) nach 4 d

690 mg (6 mmol, 6 Äq.) Indium + 230 mg (2 mmol, 2 Äq.) nach 4 d

in 20 mL Ethanol, 4 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>.

Rühren bei 50°C

Gesamte Reaktionsdauer: 7 d

Ausbeute: Ansätze vereinigt. 767 mg (2 mmol, 100 %) Diastereomergemisch **23**(*threo*)-**24**(*erythro*\*) 5:1 als farbloser Sirup erhalten

$R_f = 0.67$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

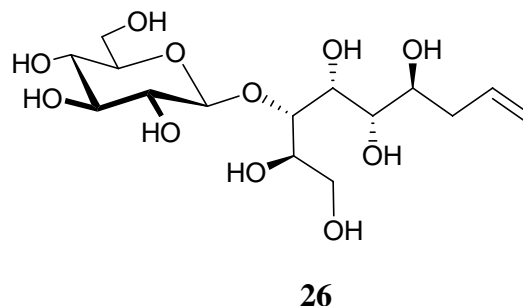
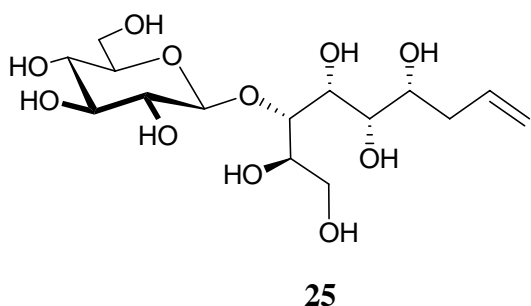
**$^1\text{H-NMR}$  (500MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.63 (dddd, 1 H, 2-H), 4.91 (dd, 1 H, 1- $\text{H}_\text{E}$ ), 4.82 (dd, 1 H, 1- $\text{H}_\text{Z}$ ), 4.24 (d, 1 H, 1'-H), 3.72 (m, 1 H, 6-H), 3.70-3.62 (m, 4 H, 4-H, 7-H, 8-H, 4'-H), 3.59 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.50-3.45 (m, 3 H, 5-H, 9-Hb, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.41 (m, 1 H, 5'-H), 3.39 (dd, 1 H, 3'-H), 3.28 (dd, 1 H, 2'-H), 2.18 (ddd, 1 H, 3-Ha\*), 2.12-2.02 (m, 2 H, 3-Ha, 3-Hb), 1.98 (m, 1 H, 3-Hb\*);  $J_{8,9\text{a}} = 2.6$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.8$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.0$  Hz,  $J_{3',4'} = 3.4$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 135.4 (C-2), 118.0 (C-1), 103.4 (C-1'), 79.8 (C-7), 75.4 (C-5'), 74.1 (C-5), 73.0 (C-3'), 71.8 (C-8), 71.5 (C-2'), 70.9 (C-4), 70.3 (C-6), 68.9 (C-4'), 62.4 (C-9), 61.2 (C-6').

$\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$  384.38

**7-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyloxy-4,5,6,8,9-penta-hydroxy-D-glycero-D-ido-non-1-en (25)**

**7-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyloxy-4,5,6,8,9-penta-hydroxy-D-glycero-D-gulo-non-1-en (26)**



Indium-vermittelte Allylierung von D-Cellobiose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / 0.1 M HCl<sub>aq</sub>**.

1.7 g (5 mmol) D-Cellobiose  
 4.8 g (40 mmol, 8 Äq.) Allylbromid  
 2.3 g (20 mmol, 4 Äq.) Indium  
 in 160 mL Ethanol, 40 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>.  
 Behandeln im Ultraschallbad  
 Gesamte Reaktionsdauer: 6 d

Ausbeute: 1.230 g (3.2 mmol, 64 %) Diastereomergemisch **25**(*threo*)-**26**(*erythro*\*) 6:1  
als farbloser Sirup

$R_f = 0.49$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  10:10:1)

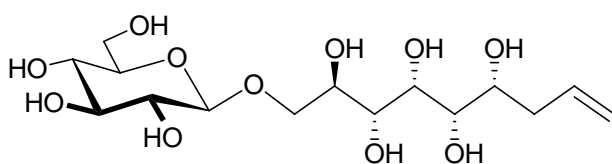
**$^1\text{H-NMR}$  (500MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 5.81$  (dddd, 1 H, 2-H), 5.09 (dd, 1 H, 1- $\text{H}_E$ ), 5.04 (dd, 1 H, 1- $\text{H}_Z$ ), 4.47 (d, 1 H, 1'-H), 3.89 (dd, 1 H, 6-H), 3.87-3.82 (m, 2 H, 4-H, 8-H), 3.79 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.77-3.72 (m, 2 H, 7-H, 6'-Ha), 3.69-3.61 (m, 3 H, 5-H, 9-Hb, 6'-Hb), 3.39 (dd, 1 H, 3'-H), 3.34 (m, 2 H, 4'-H, 5'-H), 3.22 (dd, 1 H, 2-H), 2.35 (ddd, 1 H, 3-Ha\*), 2.28-2.20 (m, 2 H, 3-ha, 3-Hb), 2.15 (m, 1 H, 3-Ha\*);  $J_{5,6} = 2.5$  Hz,  $J_{6,7} = 5.6$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.6$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 135.4$  (C-2), 118.0 (C-1), 102.8 (C-1'), 79.6 (C-7), 76.2 (C-5'), 76.0 (C-3'), 73.8 (C-5), 73.7 (C-2'), 71.8 (C-4), 70.8, 70.4 (C-6, C-8), 69.7 (C-4'), 62.4 (C-9), 60.5 (C-6').

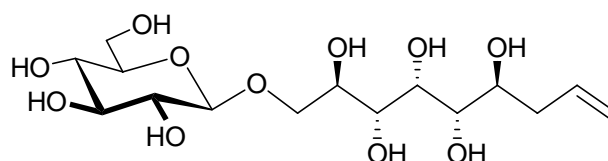
$\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$  384.38

**9- $O$ - $\beta$ -D-Glucopyranosyloxy-4,5,6,7,8-penta-hydroxy-D-glycero-D-ido-non-1-en (27)**

**9- $O$ - $\beta$ -D-Glucopyranosyloxy-4,5,6,7,8-penta-hydroxy-D-glycero-D-gulo-non-1-en (28)**



**27**



**28**

Indium-vermittelte Allylierung von D-Gentibiose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH** / **0.1 M HCl<sub>aq</sub>**.

342 mg (1 mmol) D-Gentiobiose

363 mg (3 mmol, 3 Äq.) Allylbromid + 242 mg (2 mmol, 2 Äq.) jeweils nach 20, 64 und 84 h

228 mg (2 mmol, 2 Äq.) Indium + 114 mg (1 mmol, 1 Äq.) jeweils nach 20, 64 und 84 h

in 30 mL Ethanol, 8 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>.

Rühren bei Raumtemperatur

Gesamte Reaktionsdauer: 4 d

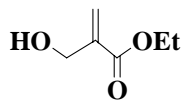
Ausbeute: 270 mg (0.7 mmol, 70 %) Diastereomerengemisch **27**(*threo*)-**28**(*erythro*\*) 6:1 als farbloser Sirup

$R_f = 0.52$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.90$  (dddd, 1 H, 2-H), 5.20 (dd, 1 H, 1-H<sub>E</sub>), 5.15 (dd, 1 H, 1-H<sub>Z</sub>), 4.51 (d, 1 H, 1'-H), 4.15 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.98 (dd, 1 H, 4-H), 3.98 (dd, m, 2 H, 8-H, 6'-Ha), 3.84 (m, 2 H, 9-Hb, 4-H), 3.79 (dd, 1 H, 7-H), 3.73 (dd, 1 H, 6'-Hb), 3.68 (dd, 1 H, 5-H), 3.52 (dd, 1 H, 3'-H), 3.48 (m, 1 H, 5'-H), 3.40 (dd, 1 H, 4'-H), 3.34 (dd, 1 H, 2'-H), 2.46 (ddd, 1 H, 3\*-Ha), 2.41 (m, 2 H, 3-Ha, 3-Hb), 2.23 (m, 1 H, 3\*-Hb);  $J_{4,5} = 3.5$  Hz,  $J_{5,6} = 6.0$  Hz,  $J_{6,7} = 2.3$  Hz,  $J_{7,8} = 8.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.5$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.1$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.2$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.2$  Hz,  $J_{4',5'} = 9.5$  Hz,  $J_{5',6'b} = 5.9$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 137.7$  (C-2), 120.5 (C-1), 105.7 (C-1'), 78.7 (C-5'), 78.8 (C-3'), 76.6 (C-5), 76.0 (C-2'), 73.7 (C-9), 73.3 (C-7), 73.1 (C-4), 72.7 (C-6,C-8), 72.5 (C-4'), 63.6 (C-6'), 40.3 (C-3).

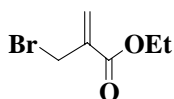
C<sub>15</sub>H<sub>28</sub>O<sub>11</sub> 384.38

**Ethyl- $\alpha$ -(hydroxymethyl)-acrylat (29)**

Zu einer Lösung aus 89.9 g (0.40 mol) Phosphonessigsäuretriethylester und 160 mL 36 %-iger Formaldehydlösung wird unter starkem Rühren innerhalb von 30 min. eine gesättigte Kaliumcarbonatlösung (96.3 g, 0.67 mol in 70 mL H<sub>2</sub>O) zugetropft. Hierbei darf die Reaktionstemperatur 35° C nicht übersteigen. Nach beendeter Zugabe wird für 1 h bei RT gerührt. Anschließend wird mit gesättigter Ammoniumchloridlösung versetzt und der Reaktionsansatz mit Diethylether (3 x 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingengt. Nach Hochvakuumdestillation erhält man 30.2 g (58 %) eines leicht verunreinigten farblosen Öls.

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 6.25 (d, 1 H, CH<sub>2a</sub>), 5.83 (dd, 1 H, CH<sub>2b</sub>), 4.32 (s, 2 H, 3-H<sub>a</sub>, 3-H<sub>b</sub>), 4.24 (q, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.39 (s, 1 H, CH<sub>2</sub>OH), 1.32 (t, 3 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>);  $J_{\text{CH2a,CH2b}}$  = 1.4 Hz,  $J_{\text{CH2,CH3}}$  = 7.1 Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 166.7 (COOEt), 140.2 (CCH<sub>2</sub>), 125.4 (CCH<sub>2</sub>), 66.1 (CH<sub>2</sub>OH), 61.1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 14.5 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

**Ethyl- $\alpha$ -(bromomethyl)-acrylat (30)**

Zu 250 mL trockenem Et<sub>2</sub>O werden unter Kühlung bei –10° C zuerst 30 g (0.23 mol) Ethyl- $\alpha$ -(hydroxymethyl)-acrylat und dann langsam 34.0 g (0.12 mol) Phosphortribromid gegeben. Nach 3 h Rühren bei max. 20° C wird auf –10° C abgekühlt und mit Wasser (150 mL) versetzt. Anschließend wird mit n-Hexan (3 x 50 ml) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen (2 x 50 mL) und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet.



Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Nach Destillation im Hochvakuum werden 33.2 g (75 %) des reinen Produkts in Form eines farblosen Öls erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 6.24 (d, 1 H,  $\text{CH}_{2a}$ ), 5.87 (d, 1 H,  $\text{CH}_{2b}$ ), 4.19 (q, 2 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 4.11 (d, 2 H,  $\text{CH}_2\text{Br}$ ), 1.23 (t, 3 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ );  $J_{\text{CH}_{2a},\text{CH}_{2b}}$  = 0.7 Hz,  $J_{\text{CH}_2,\text{CH}_3}$  = 7.2 Hz.

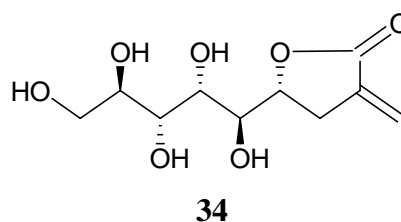
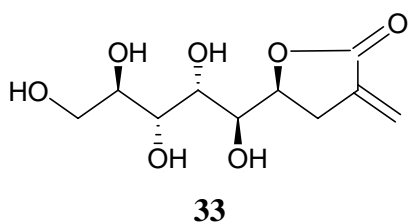
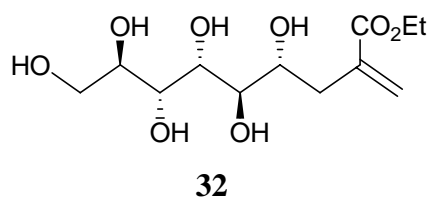
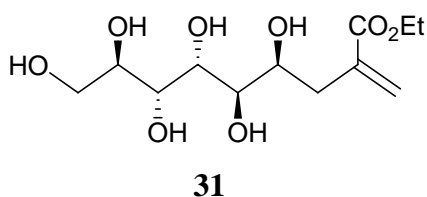
**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 163.8 ( $\text{COOEt}$ ), 136.8 ( $\text{CCH}_2$ ), 127.7 ( $\text{CCH}_2$ ), 60.2 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 28.3 ( $\text{CH}_2\text{Br}$ ), 14.5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

**2,3-Didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-galacto-nononsäureethylester (31)**

**2,3-Didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-talo-nononsäureethylester (32)**

**2,3-Didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-galacto-nononsäure-1,4-lacton (33)**

**2,3-Didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-talo-nononsäure-1,4-lacton (34)**



Indium-vermittelte Allylierung von D-Mannose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / Wasser**

902 mg (5 mmol) D-Mannose

1.93 g (10 mmol, 2 Äq.) Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30**

1.14 g (20 mmol, 2 Äq.) Indium

in 40 mL Ethanol, 10 mL Wasser

Ultraschallbad, 50°C

Gesamte Reaktionsdauer: 30 h

Ausbeute: 850 mg (3.43 mmol, 69 %) Ester **31/32** : Lacton **33/34** 1:5 mit einem jeweiligen Diastereomerenverhältnis von **31/33**(*threo*) – **32/34**(*erythro*)\* 6:1 als farbloser Schaum

Ansatz in **EtOH / 0.1 M HCl<sub>aq</sub>**.

902 mg (5 mmol) D-Mannose

1.93 g (10 mmol, 2 äq.) Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30**

1.14 g (20 mmol, 2 äq.) Indium

in 40 mL Ethanol, 10 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>.

Ultraschallbad, 50°C

Gesamte Reaktionsdauer: 20 h

Ausbeute: 535 mg (2.16 mmol, 43 %) Ester **35/36** : Lacton **37/38** 1:5 mit einem jeweiligen Diastereomerenverhältnis von **35/37**(*threo*) : **36/38**(*erythro*)\* 6:1 als farbloser Schaum

$R_f = 0.81$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

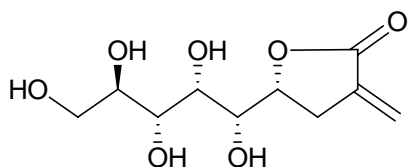
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 6.19 (dd, 1 H, Lacton CH<sub>2a</sub>), 5.84 (d, 1 H, Ester CH<sub>2b</sub>), 5.83 (dd, 1 H, Lacton CH<sub>2b</sub>), 5.45 (d, 1 H, Ester CH<sub>2b</sub>), 5.11 (ddd, 1 H, Lacton 4-H), 5.07 (m, 1 H, Lacton 4-H\*), 4.05 (ddd, 1 H, Ester 4-H), 3.94 (m, 1 H, 6-H), 3.88 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.82-3.75 (m, 3 H, 5-H, 7-H, 8-H), 3.69 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.18 (ddt, 1 H, Lacton 3-Ha), 3.00 (ddt, 1 H, Lacton 3-Hb), 2.6 (m, 1 H, Ester 3-Ha), 2.56 (m, 1 H, Ester 3-Hb);  $J_{CH2a,3a} = J_{CH2a,3b} = 2.9$  Hz Lacton,  $J_{CH2b,3a} = J_{CH2b,3b} = 2.5$  Hz Lacton,  $J_{3a,4} = 5.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 5.0$  Hz,  $J_{3a,3b} = 17.6$  Hz,  $J_{4,5} = 1.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 3.5$  Hz,  $J_{8,9b} = 5.6$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.6$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 176.7 (C-1), 137.3 (C-2), 125.6 (CH<sub>2</sub>), 80.5 (C-4), 73.7 (C-7, C-8), 71.9, 71.5 (C-5, C-6), 66.1 (C-9), 32.0 (C-3).

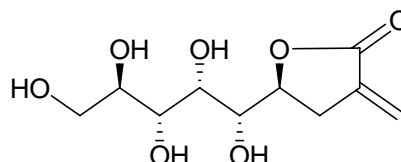
$C_{10}H_{16}O_7$  248.23

**2,3-Didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-ido-nononsäure-1,4-lacton (35)**

**2,3-Didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-gulo-nononsäure-1,4-lacton (36)**



**35**



**36**

Indium-vermittelte Allylierung von D-Glucose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / 0.1 M HCl<sub>aq</sub>**.

1.8 g (10 mmol) D-Glucose

7.72 g (40 mmol, 4 Äq.) Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30**

2.28 g (20 mmol, 2 Äq.) Indium

in 80 mL Ethanol, 20 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>.

Ultraschallbad, 50°C

Gesamte Reaktionsdauer: 8 d

Ausbeute: Ansatz sofort weiter verarbeitet. Roh-NMR weist ein Verhältnis von **35**(*threo*)/**36**(*erythro*)\* 6:1 auf. Geringe Mengen des *threo*-angereicherten Produkts (ca.95 %) konnten nach Aktivkohle-Kieselgur-Chromatographie 1:1 (Wasser/EtOH-Gradient 100:0-85:15) isoliert werden.

$R_f = 0.67$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 6.22 (dd, 1 H, CH<sub>2a</sub>), 5.84 (dd, 1 H, CH<sub>2b</sub>), 4.91 (ddd, 1 H, 4-H), 3.98 (dd, 1 H, 6-H), 3.85 (m, 2 H, 5-H, 9-Ha), 3.84 (m, 1 H, H-8), 3.76 (dd, 1 H, 7-H),

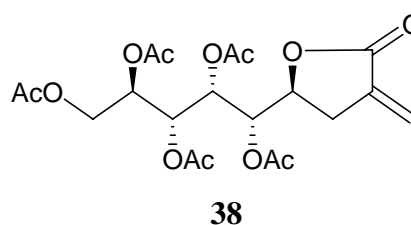
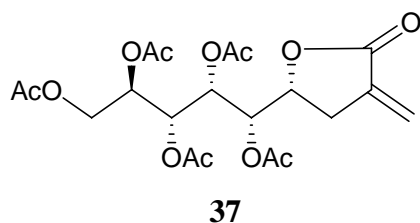
3.68 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.17 (ddt, 1 H, 3-Ha), 2.98 (ddt, 1 H, 3-Hb), 1.19 (t, 3 H, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>);  $J_{\text{CH2a,3a}} = J_{\text{CH2a,3b}} = 2.8$  Hz,  $J_{\text{CH2b,3a}} = J_{\text{CH2b,3b}} = 2.8$  Hz,  $J_{3a,4} = 8.5$  Hz,  $J_{3b,4} = 5.5$  Hz,  $J_{3a,3b} = 17.5$  Hz,  $J_{4,5} = 3.3$  Hz,  $J_{5,6} = 6.7$  Hz,  $J_{6,7} = 1.9$  Hz,  $J_{7,8} = 8.3$  Hz,  $J_{8,9b} = 5.9$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.7$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 174.1$  (C-1), 134.5 (C-2), 123.6 (CH<sub>2</sub>), 78.6 (C-4), 74.1 (C-5), 71.5 (C-8), 71.1 (C-7), 70.3 (C-6), 63.3 (C-9), 29.7 (C-3).

C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub>      248.23

**5,6,7,8,9-Penta-*O*-acetyl-2,3-dideoxy-2-methylen-D-glycero-D-ido-nononsäure-1,4-lacton (37)**

**5,6,7,8,9-Penta-*O*-acetyl-2,3-dideoxy-2-methylen-D-glycero-D-gulo-nononsäure-1,4-lacton (38)**



Acetylierung von **35/36** nach **AAV 2**

Ansatz:          154 mg (0.62 mmol) **35/36**

Ausbeute:      198 mg (0.43 mmol, 70 %) **37(threo)** : **38(erythro)\*** 16:1 als gelber Sirup  
nach Chromatographie an Kieselgel (AcOEt/Cyclohexan 2:3)

$R_f = 0.15$  (AcOEt/Cyclohexan 2:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 6.16$  (dd, 1 H, CH<sub>2a</sub>\*), 6.15 (dd, 1 H, CH<sub>2a</sub>), 5.62 (dd, 1 H, CH<sub>2b</sub>\*), 5.55 (dd, 1 H, CH<sub>2b</sub>), 5.51 (dd, 1 H, 6-H), 5.39 (dd, 1 H, 7-H), 5.02 (dd, 1 H, 5-H),

4.98 (ddd, 1 H, 8-H), 4.86 (ddd, 1 H, 4-H), 4.61 (ddd, 1 H, 4-H\*), 4.18 (dd, 1 H, 9-Ha), 4.06 (dd, 1 H, 9-Hb), 2.96 (ddd, 1 H, 3-Ha), 2.57 (ddd, 1 H, 3-Hb);  $J_{\text{CH2a,3a}} = J_{\text{CH2b,3a}} = 2.9$  Hz,  $J_{\text{CH2b,3b}} = J_{\text{CH2b,3b}} = 2.5$  Hz,  $J_{3a,3b} = 17.5$  Hz,  $J_{3a,4} = 8.7$  Hz,  $J_{3b,4} = 4.6$  Hz,  $J_{4,5} = 2.1$  Hz,  $J_{5,6} = 8.3$  Hz,  $J_{6,7} = 2.6$  Hz,  $J_{7,8} = 8.5$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.8$  Hz,  $J_{8,9b} = 4.5$  Hz,  $J_{9a,9b} = 12.4$  Hz.

$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 169.5\text{--}168.2$  ( $\text{COCH}_3$ , C-1), 132.1 (C-2), 120.9 ( $\text{CH}_2$ ), 72.5 (C-4), 71.3 (C-5), 67.7 (C-6), 67.3, 67.2 (C-7, C-8), 60.4 (C-9), 28.8 (C-3), 19.8-19.4 ( $\text{COCH}_3$ ).

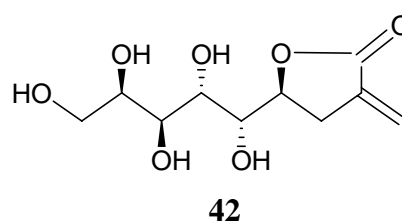
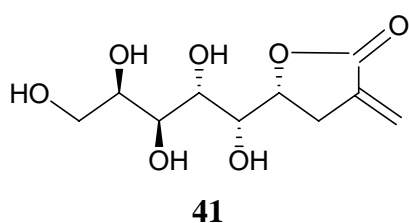
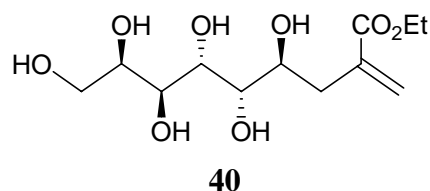
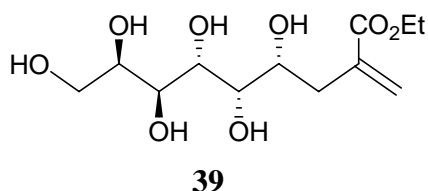
$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$  458.41

**2,3-Didesoxy-2-methylen-D-glycero-L-glucoco-nononsäureethylester (39)**

**2,3-Didesoxy-2-methylen-D-glycero-L-manno-nononsäureethylester (40)**

**2,3-Didesoxy-2-methylen-D-glycero-L-gluco-nononsäure-1,4-lacton (41)**

**2,3-Didesoxy-2-methylen-D-glycero-L-manno-nononsäure-1,4-lacton (42)**



Indium-vermittelte Allylierung von D-Galactose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH** / **Wasser**

902 mg (5 mmol) D-Galactose

1.93 g (10 mmol, 2 Äq.) Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30**

1.14 g (20 mmol, 2 Äq.) Indium

in 40 mL Ethanol, 10 mL Wasser

Ultraschallbad, 50°C

Gesamte Reaktionsdauer: 24 h

Ausbeute: 880 mg (3.55 mmol, 71 %) Ester **39/40** : Lacton **41/42** 1:9 mit einem jeweiligen Diastereomerenverhältnis von **39-41**(*threo*) : **40-42**(*erythro*)\* 6:1 als farbloser Schaum

Ansatz in **EtOH / 0.1 M HCl<sub>aq</sub>**.

902 mg (5 mmol) D-Galactose

1.93 g (10 mmol, 2 Äq.) Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30**

1.14 g (20 mmol, 2 äq.) Indium

in 40 mL Ethanol, 10 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>.

Ultraschallbad, 50°C

Gesamte Reaktionsdauer: 6 h

Ausbeute: 660 mg (2.66 mmol, 53 %) Ester **39/40** - Lacton **41/42** mit einem jeweiligen Diastereomerenverhältnis von **39-41**(*threo*) : **40-42**(*erythro*)\* 6:1 als farbloser Schaum

$R_f = 0.74$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

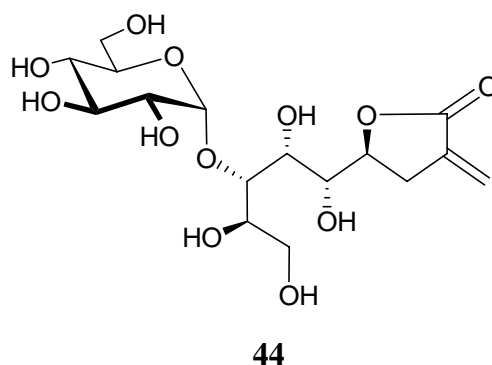
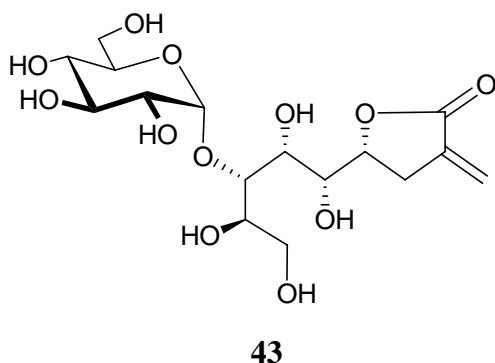
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 6.32 (d, 1 H, CH<sub>2a</sub>), 6.19 (dd, 1 H, CH<sub>2a</sub>), 5.92 (d, 1 H, CH<sub>2b</sub>), 5.83 (dd, 1 H, CH<sub>2b</sub>), 4.84 (ddd, 1 H, 4-H), 3.99 (ddd, 1 H, 8-H), 3.96 (dd 1 H, 5-H), 3.78 (dd, 1 H, 6-H), 3.72 (dd, 1 H, 7-H), 3.71 (m, 2 H, 9-Ha, 9-Hb), 3.18 (ddt, 1 H, 3-Ha), 2.85 (ddt, 1 H, 3-Hb);  $J_{CH2a,3a} = J_{CH2a,3b} = 2.9$  Hz,  $J_{CH2b,3a} = J_{CH2b,3b} = 2.5$  Hz,  $J_{3a,4} = 8.0$  Hz,  $J_{3b,4} = 6.3$  Hz,  $J_{3a,3b} = 17.3$  Hz,  $J_{4,5} = 7.0$  Hz,  $J_{5,6} = 1.6$  Hz,  $J_{6,7} = 9.3$  Hz,  $J_{7,8} = 1.4$  Hz,  $J_{8,9a} = 7.0$  Hz,  $J_{8,9b} = 7.0$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 174.0 (C-1), 134.4 (C-2), 124.0 (CH<sub>2</sub>), 81.0 (C-4), 72.3 (C-5), 70.5 (C-8), 69.8, 69.8 (C-6, C-7), 63.7 (C-9), 30.0 (C-3).

C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub> 248.23

**7-*O*- $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-2,3-dideoxy-2-methylen-D-*glycero*-D-*ido*-nononsäure-1,4-lacton (43)**

**7-*O*- $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-2,3-dideoxy-7-*O*- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-2-methylen-D-*glycero*-D-*gulo*-nononsäure-1,4-lacton (44)**



Indium-vermittelte Allylierung von D-Maltose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / Wasser**

1.8 g (5 mmol) D-Maltose

3.86 g (20 mmol, 4 Äq.) Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat 30 + 1.93 g (10 mmol, 2 Äq.) nach 4 d

2.3 g (20 mmol, 4 Äq.) Indium + 1.15 g (10 mmol, 2 Äq.) nach 4 d  
in 100 mL Ethanol, 20 mL Wasser

Rühren bei 50°C

Gesamte Reaktionsdauer: 7 d

Ausbeute: 1.639 g (4 mmol, 80%) eines verunreinigten Diastereomerengemischs *threo/erythro*\* 12:1 als farbloser Schaum erhalten. Chromatographie an Aktivkohle/Kieselgur (1:1) liefern 968 mg (2.36 mmol, 59 %) des *threo-erythro*\* Lactons **43/44** 7:1 als farblosen Schaum in hoher Reinheit.

Chromatographie: Wasser/Ethanol 100:0-85:15. Ein Gradient in 2.5 % Schritten wird gefahren, wobei mit 100% Wasser zuerst eluiert wird, dann mit 2.5 % Ethanol, 5%, 7.5%, 10%, 12.5% und schließlich mit 15%.

$R_f = 0.59$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  10:10:1)

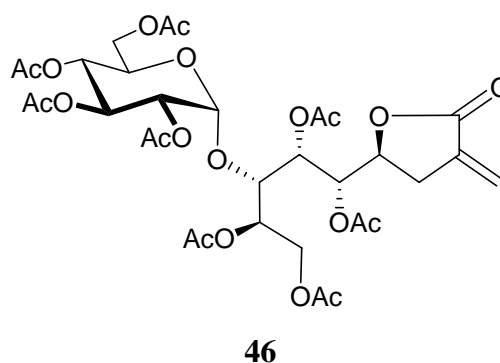
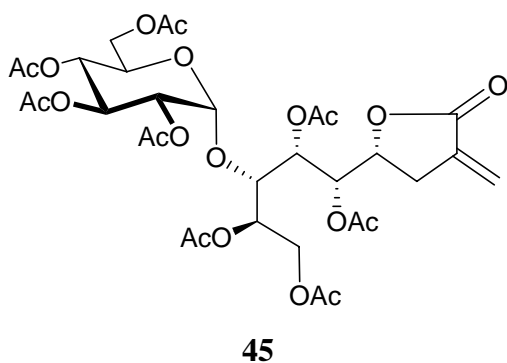
**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 6.22 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2a}$ ), 5.84 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2b}$ ), 5.13 (dd, 1 H,  $1'\text{-H}$ ), 4.89 (ddd, 1 H, 4-H), 4.03 (m, 2 H, 6-H, 8-H), 3.94 (m, 2 H, 5-H, 7-H), 3.88 (m, 1 H,  $5'\text{-H}$ ), 3.87-3.79 (m, 3 H,  $6'\text{-Ha}$ , 9-Ha,  $6'\text{-Hb}$ ), 3.76 (dd, 1 H,  $3'\text{-H}$ ), 3.69 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.59 (dd, 1 H,  $2'\text{-H}$ ), 3.45 (dd, 1 H,  $4'\text{-H}$ ), 3.17 (ddd, 1 H, 3-Ha), 2.90 (ddd, 1 H, 3-Hb)  $J_{\text{CH}_{2a},3a} = J_{\text{CH}_{2a},3b} = 2.8$  Hz,  $J_{\text{CH}_{2b},3a} = J_{\text{CH}_{2b},3b} = 2.7$  Hz,  $J_{3a,4} = 8.2$  Hz,  $J_{3b,4} = 2.9$  Hz,  $J_{3a,3b} = 17.4$  Hz,  $J_{8,9b} = 7.1$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.8$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.8$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.0$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.5$  Hz,  $J_{4',5'} = 9.5$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 176.3 (C-1), 136.7 (C-2), 126.2 ( $\text{CH}_2$ ), 103.4 (C-1'), 83.9 (C-5), 82.0 (C-4), 75.6, 75.5, 75.4, 75.3, 73.4 (C-6, C-7, C-8, C-3', C-5'), 74.4 (C-2'), 72.3 (C-4'), 65.2 (C-9), 63.3 (C-6'), 32.3 (C-3).

$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$  410.37

**4,5,6,8,9-Penta-*O*-acetyl-7-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-ido-nononsäure-1,4-lacton (45)**

**4,5,6,8,9-Penta-*O*-acetyl-7-*O*- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-gulo-nononsäure-1,4-lacton (46)**



Acetylierung von **43/44** nach **AAV 2**

Ansatz: 197 mg eines Gemisches aus Edukt/**43/44**

Ausbeute: 123 mg (0.14 mmol, 28% Ausbeute, über 2 Stufen) **45** (*threo*) : **46** (*erythro*\*)  
12:1 als gelber Sirup



$R_f = 0.42$  (AcOEt/Cyclohexan/Chloroform 7:2:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 6.24$  (m, 1 H,  $\text{CH}_{2a}^*$ ), 6.20 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2a}$ ), 5.68 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2b}^*$ ), 5.63 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2b}$ ), 5.48 (dd, 1 H, 6-H), 5.35 (dd, 1 H, 3'-H), 5.34 (dd, 1 H, 5-H), 5.30 (d, 1 H, 1'-H), 5.18 (ddd, 1 H, 8-H), 5.05 (dd, 1 H, 4'-H), 4.91 (dd, 1 H, 2'-H), 4.74 (ddd, 1 H, 4-H), 4.57 (dd, 1 H, 9-Ha), 4.28 (dd, 1 H, 6'-Ha), 4.20 (ddd, 1 H, 5'-H), 4.18 (dd, 1 H, 9-Hb), 4.13 (dd, 1 H, 7-H), 4.04 (dd, 1 H, 6'-Hb), 3.05 (ddd, 1 H, 3-Ha), 3.01 (m, 1 H, 3-Ha\*), 2.96 (m, 1 H, 3-Hb\*), 2.79 (ddd, 1 H, 3-Hb), 2.15, 2.10, 2.08, 2.06, 2.03 (s, 27 H,  $\text{OCOCH}_3$ );  $J_{\text{CH}_{2a},3a} = J_{\text{CH}_{2a},3b} = 2.8$  Hz,  $J_{\text{CH}_{2b},3a} = J_{\text{CH}_{2b},3b} = 2.4$  Hz,  $J_{3a,4} = 4.1$  Hz,  $J_{3b,4} = 8.2$  Hz,  $J_{3a,3b} = 17.5$  Hz,  $J_{4,5} = 4.1$  Hz,  $J_{5,6} = 4.4$  Hz,  $J_{6,7} = 6.8$  Hz,  $J_{7,8} = 3.0$  Hz,  $J_{8,9a} = 3.3$  Hz,  $J_{8,9b} = 7.2$  Hz,  $J_{9a,9b} = 12.4$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.8$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.4$  Hz,  $J_{3',4'} = 10.0$  Hz,  $J_{4',5'} = 10.0$  Hz,  $J_{5',6'a} = 2.3$  Hz,  $J_{5',6'b} = 4.4$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.3$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 173.1$ -170.9 (C-1, 9\* $\text{OCOCH}_3$ ), 135.1 (C-2), 124.1 ( $\text{CH}_2$ ), 98.5 (C-1'), 77.7 (C-7), 76.8 (C-4), 73.8 (C-5), 73.3 (C-8), 73.0 (C-6), 72.0 (C-2'), 71.6 (C-3'), 70.3-70.0 (C-4', C-5'), 64.1 (C-9), 63.7 (C-6'), 32.4 (C-3), 23.0-22.5 (9\* $\text{OCOCH}_3$ ).

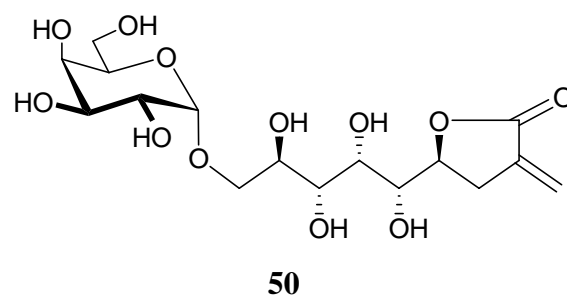
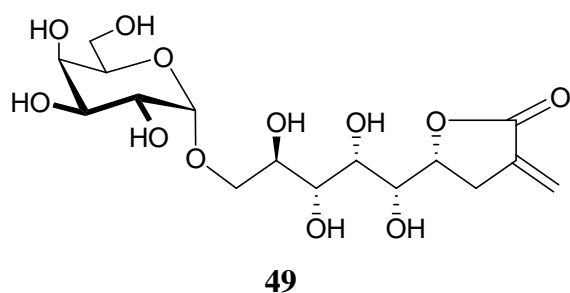
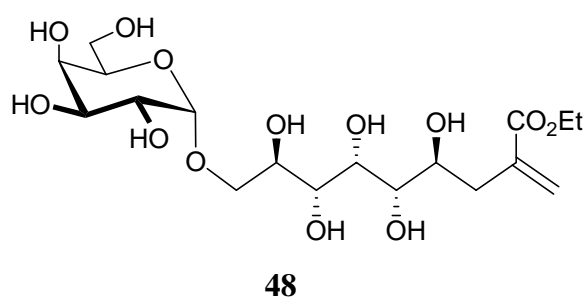
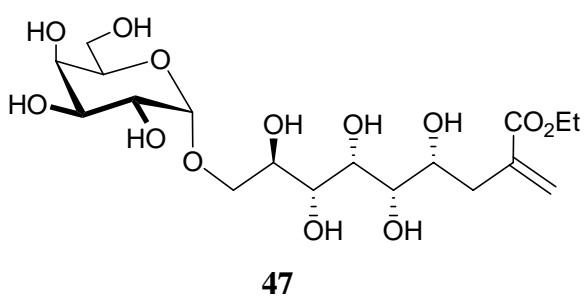
$\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{O}_{20}$  746.66

**9-*O*- $\alpha$ -D-Galactopyranosyl-2,3-dideoxy-2-methylen-D-*glycero*-D-*ido*-nononsäureethylester (47)**

**9-*O*- $\alpha$ -D-Galactopyranosyl-2,3-dideoxy-2-methylen-D-*glycero*-D-*gulo*-nononsäureethylester (48)**

**9-*O*- $\alpha$ -D-Galactopyranosyl-2,3-dideoxy-2-methylen-D-*glycero*-D-*ido*-nononsäure-1,4-lacton (49)**

**9-*O*- $\alpha$ -D-Galactopyranosyl-2,3-dideoxy-2-methylen-D-*glycero*-D-*gulo*-nononsäure-1,4-lacton (50)**



Indium-vermittelte Allylierung von D-Melibiose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / Wasser**

1.711 g (5 mmol) D-Melibiose

2.895 g (15 mmol, 3 Äq.) Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30**

1.725 g (15 mmol, 3 Äq.) Indium

in 100 mL Ethanol, 20 mL Wasser

Rühren bei 50°C

Gesamte Reaktionsdauer: 6 d

Ausbeute: 1.73 g (4.22 mmol, 84%) eines verunreinigten Ester **47/48** : Lacton **49/50** Gemischs 1:4 mit einem jeweiligen Diastereomerenverhältnis *threo/ erythro*\* 5:1 als farbloser Schaum erhalten. Chromatographie einer kleinen Mengen von 150 mg an Aktivkohle/Kieselgur liefern 100 mg (0.24 mmol, 35 %) des Ester(**47/48**)-Lacton(**49/50**)-Gemischs 1:3 als farblosen Schaum in hoher Reinheit.

Chromatographie: Wasser/Ethanol 100:0- 92.5:7.5. Ein Gradient in 2.5 % Schritten wird gefahren, wobei mit 100% Wasser zuerst eluiert wird (400 mL), dann mit 2.5 % Ethanol (400 mL), 5% (400 mL) und schließlich 7.5% (400 mL).

$R_f = 0.55$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  10:10:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 6.21$  (dd, 1 H, Lacton  $\text{CH}_{2a}$ ), 5.84 (dd, 1 H, Lacton  $\text{CH}_{2b}$ ), 5.84 (m, 1 H, Ester  $\text{CH}_{2a}$ ), 5.48 (m, 1 H, Ester  $\text{CH}_{2b}$ ), 5.00 (d, 1 H, 1'-H), 4.91 (ddd, 1 H, 4-H), 4.84 (ddd, 1 H, 4-H\*), 4.02 (m, 2 H, 6-H, 4'-H), 3.99 (m, 1 H, 5'-H), 3.90 (m, 1 H, 3'-H), 3.86 (m, 2 H, 5-H, 2'-H), 3.75 (d, 2 H, 6'-Ha, 6'-Hb), 4.00-3.83 (m, 3 H, 7-H, 8-H, 9-Ha) 3.72 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.17 (ddd, 1 H, 3-Ha), 3.10 (m, 1 H, 3-Ha\*), 3.05 (m, 1 H, 3-Hb\*), 2.99 (ddd, 1 H, 3-Hb), 2.60 (dd, 1 H, Ester 3-Ha), 2.52 (dd, 1 H, Ester 3-Hb);  $J_{\text{CH}_{2a},3a} = J_{\text{CH}_{2a},3b} = 2.7$  Hz (Lacton),  $J_{\text{CH}_{2b},3a} = J_{\text{CH}_{2b},3b} = 5.4$  Hz (Lacton),  $J_{3a,3b} = 17.5$  Hz (Lacton),  $J_{3a,4} = 8.4$  Hz (Lacton),  $J_{3b,4} = 5.4$  Hz (Lacton),  $J_{3a,4} = 5.1$  Hz (Ester),  $J_{3b,4} = 8.3$  Hz (Ester),  $J_{3a,3b} = 14.0$  Hz (Ester),  $J_{4,5} = 5.3$  Hz,  $J_{8,9b} = 2.4$  Hz,  $J_{9a,9b} = 10.5$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.5$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 173.5$  (C-1), 133.9 (C-2), 123.1 ( $\text{CH}_2$ ), 98.4 (C-1'), 78.0 (C-4), 73.6 (C-5), 70.9 (C-5'), 70.3, 69.7 (C-7, C-8), 69.5 (C-3'), 69.4 (C-6), 69.2 (C-4'), 68.7 (C-9), 68.4 (C-2'), 61.1 (C-6'), 29.2 (C-3).

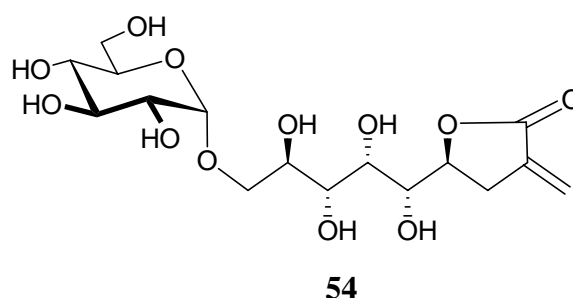
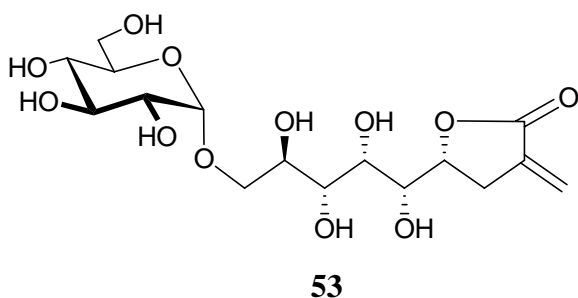
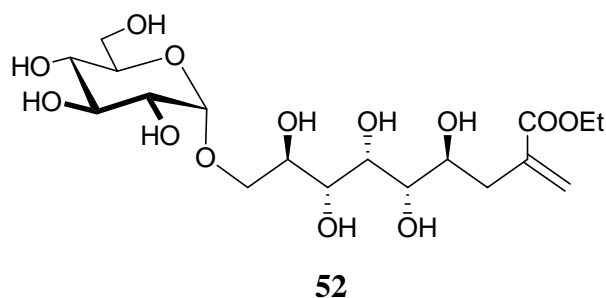
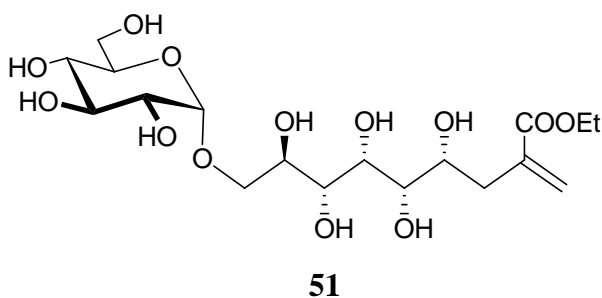
$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$  410.37

**9-O- $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-ido-nononsäureethylester**  
(51)

**9-O- $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-gulo-nononsäureethylester**  
(52)

**9-O- $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-ido-nononsäure-1,4-lacton** (53)

**9-O- $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-gulo-nononsäure-1,4-lacton** (54)



Indium-vermittelte Allylierung von D-Isomaltose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH** / **Wasser 0.1 M HCl<sub>aq</sub>**.

1.71 g (5 mmol) D-Isomaltose

1.93 g (10 mmol, 2 Äq.) Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30** + 483 mg (2.5 mmol, 0.5 Äq.) nach 17 h, 27 h, 45 h, 53 h, 62 h

1.148 g (10 mmol, 2 Äq.) Indium + 285 mg (2.5 mmol, 0.5 Äq.) nach nach 17 h, 27 h, 45 h, 53 h, 62 h

in 100 mL Ethanol, 60 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>.

Ultraschallbad, 50°C

Gesamte Reaktionsdauer: 3.5 d

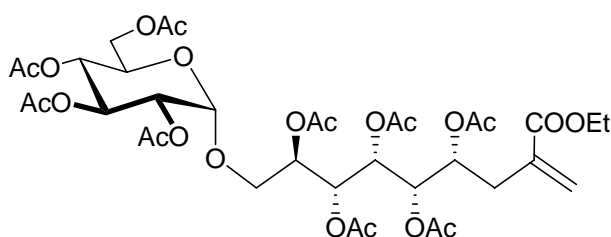
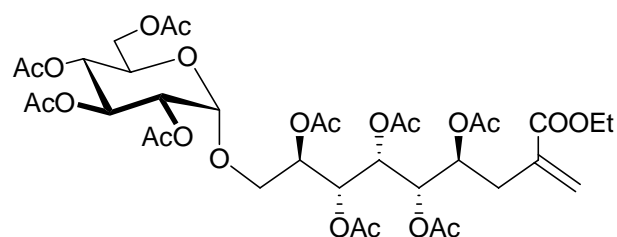
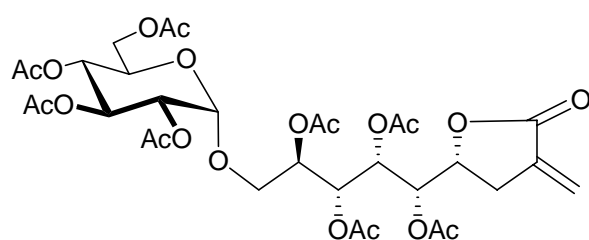
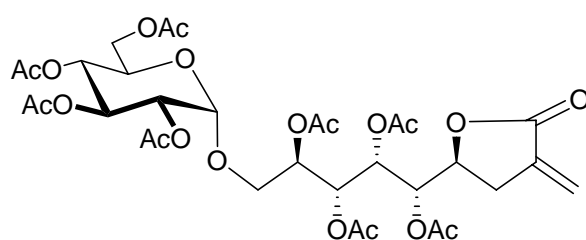
Ausbeute: Rohprodukt aus Edukt, Ester **51/52** –Lacton **53/54** (1:10) nach **AAV 2** sofort weiter peracetyliert

**4,5,6,7,8-Penta-*O*-acetyl-9-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)-2,3-dideoxy-2-methylen-D-glycero-D-ido-nononsäureethylester (**55**)**

**4,5,6,7,8-Penta-*O*-acetyl-9-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)-2,3-dideoxy-2-methylen-D-glycero-D-gulo-nononsäureethylester (**56**)**

**4,5,6,7,8-Penta-*O*-acetyl-9-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)-2,3-dideoxy-2-methylen-D-glycero-D-idoso-nononsäure-1,4-lacton (**57**)**

**4,5,6,7,8-Penta-*O*-acetyl-9-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)-2,3-dideoxy-2-methylen-D-glycero-D-guloso-nononsäure-1,4-lacton (**58**)**

**55****56****57****58**

Acetylierung nach **AAV 2**

Ansatz: Rohprodukt aus Isomaltose, Ester **51/52** und Lacton **53/54** (1:10)

Ausbeute: 681 mg einer nicht trennbaren Mischung aus acetyliertem Edukt und Ester-Diastereomerengemisch **55/56** als farbloser Feststoff

1.32 g (1.81 mmol, 36 %, über 2 Stufen) **57**(*threo*) : **58**(*erythro*\*) 8.5:1 als farbloser Feststoff nach Chromatographie an Flash-Kieselgel (AcOEt/Cyclohexan 5:2)

$R_f = 0.33$  (AcOEt/Cyclohexan 2:1) acetyliertes Edukt/**55/56**

$R_f = 0.30$  (AcOEt/Cyclohexan 2:1) **57/58**

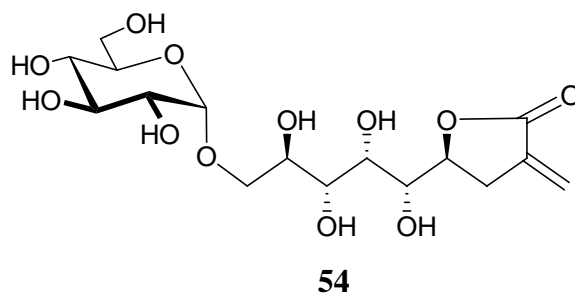
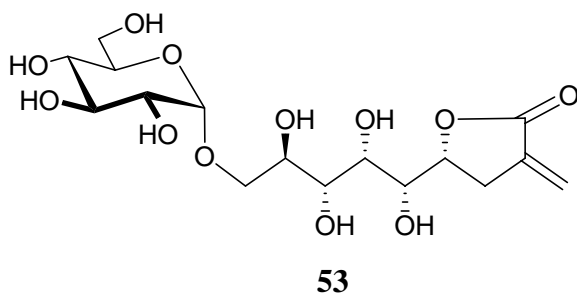
**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 6.18$  (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2a}$ ), 6.15 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2b}$ ), 5.56 (dd, 1 H, 6-H), 5.46 (dd, 1 H, 7-H), 5.30 (dd, 1 H, 3'-H), 5.13 (dd, 1 H, 5-H), 5.02 (m, 3 H, 8-H, 1'-H, 4'-H), 4.87 (ddd, 1 H, 4-H), 4.82 (dd, 1 H, 2'-H), 4.19 (m, 1 H, 6'a-H) 4.04 (m, 1 H, 6'-Hb), 3.90 (m, 1 H, 5'-H), 3.61 (m, 2 H, 9-Hb, 9-Hb), 3.05 (ddd, 1 H, 3a-H), 2.93 (m, 1 H, 3-Ha\*), 2.67 (ddd, 1 H, 3-Hb\*), 2.60 (ddd, 1 H, 3b-H);  $J_{\text{CH}_{2a},3a} = J_{\text{CH}_{2a},3a} = 2.7$  Hz,  $J_{\text{CH}_{2a},3a} = J_{\text{CH}_{2a},3b} = 2.5$  Hz,  $J_{3a,4} = 5.3$  Hz,  $J_{3b,4} = 8.5$  Hz,  $J_{4,5} = 5.3$  Hz,  $J_{8,9b} = 2.4$  Hz,  $J_{9a,9b} = 10.5$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.5$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 173.5$  (C-1), 133.9 (C-2), 123.1 ( $\text{CH}_2$ ), 98.4 (C-1'), 73.4 (C-4), 70.9 (C-5), 69.5 (C-2'), 68.8 (C-3'), 68.3, 68.2 (C-6, C-7), 67.5 (C-8), 67.2 (C-4'), 66.7 (C-5'), 64.6 (C-9), 60.7 (C-6'), 29.2 (C-3).

$\text{C}_{21}\text{H}_{44}\text{O}_{21}$  764.68

**9-*O*- $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-2,3-dideoxy-2-methylen-D-*glycero*-D-*ido*-nononsäure-1,4-lacton (53)**

**9-*O*- $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-2,3-dideoxy-2-methylen-D-*glycero*-D-*gulo*-nononsäure-1,4-lacton (54)**



Indium-vermittelte Allylierung von D-Isomaltose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / 0.1 M HCl<sub>aq</sub>**.

86 mg (0.25 mmol) D-Isomaltose

386 mg (2 mmol, 8 Äq.) Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30**

115 mg (1 mmol, 4 Äq.) Indium + 115 mg (1 mmol, 1 Äq.) nach 3 d  
in 10 mL Ethanol, 2 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>.

Rühren bei 50°C

Gesamte Reaktionsdauer: 11 d

Ausbeute: 77 mg (0.19 mmol, 75%) eines leicht verunreinigten Diastereomerengemischs  
**53(threo) : 54(erythro)** 5:1 als farbloser Sirup

Ansatz: 1.32 g (1.81 mmol) **57/58** nach **AAV 5** entschützt

Ausbeute: 740 mg (1.81 mmol, quant.) **53(threo) : 54(erythro)** 8.5:1 als farbloser Sirup

$R_f = 0.66$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 6.22 (dd, 1 H, CH<sub>2a</sub>), 5.85 (dd, 1 H, CH<sub>2b</sub>), 4.97 (d, 1 H, 1'-H), 4.93 (ddd, 1 H, 4-H), 4.00 (dd, 1 H, 6-H), 3.95 (m, 1 H, 9-Ha), 3.85 (m, 3 H, 5-H,

5'-H, 6'-Ha), 3.75 (m, 5 H, 7-H, 8-H, 9-Hb, 3'-H, 6'-Hb), 3.58 (dd, 1 H, 2'-H), 3.43 (dd, 1 H, 4'-H), 3.16 (ddd, 1 H, 3-Ha), 2.99 (ddd, 1 H, 3-Hb);  $J_{\text{CH2a,CH2b}} = 2.7$  Hz,  $J_{\text{CH2a,3a}} = J_{\text{CH2b,3a}} = 2.7$  Hz,  $J_{\text{CH2a,3b}} = J_{\text{CH2a,3b}} = 2.7$  Hz,  $J_{3a,3b} = 17.4$  Hz,  $J_{3a,4} = 8.5$  Hz,  $J_{3b,4} = 5.4$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.7$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.8$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.3$  Hz,  $J_{4',5'} = 9.3$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 176.4$  (C-1), 141.9 (C-2), 126.0 ( $\text{CH}_2$ ), 101.0 (C-1'), 80.9 (C-4), 76.4 (C-5), 75.9 (C-3'), 74.6 (C-5'), 74.3 (C-2'), 73.1, 72.5, 72.2 (C-6, C-7, C-8), 72.4 (C-4'), 71.8 (C-9), 63.4 (C-6'), 32.0 (C-3).

$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$  410.37

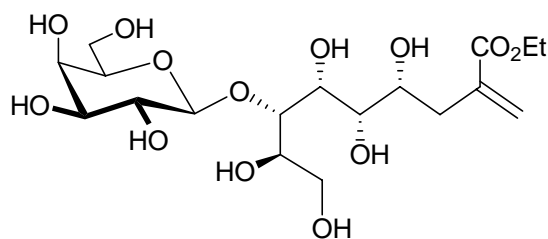
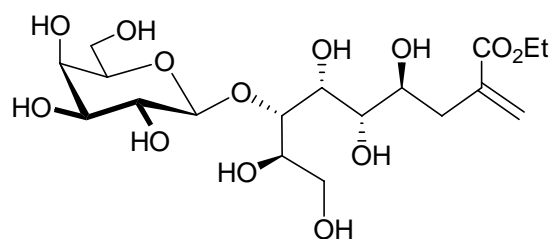
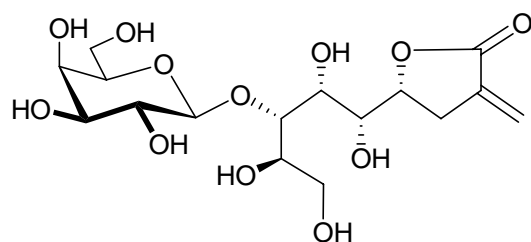
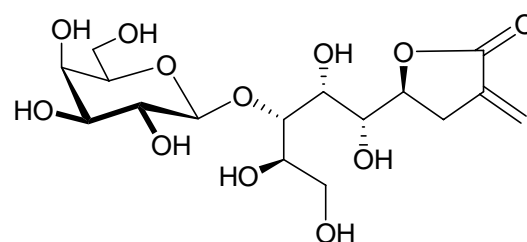


**7-*O*- $\alpha$ -D-Galactopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-*glycero*-D-*ido*-nononsäureethylester (59)**

**7-*O*- $\alpha$ -D-Galactopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-*glycero*-D-*gulo*-nononsäureethylester (60)**

**7-*O*- $\alpha$ -D-Galactopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-*glycero*-D-*ido*-nononsäure-1,4-lacton (61)**

**7-*O*- $\alpha$ -D-Galactopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-*glycero*-D-*gulo*-nononsäure-1,4-lacton (62)**

**59****60****61****62**

Indium-vermittelte Allylierung von D-Lactose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / Wasser**

1.71 g (5 mmol) D-Lactose

1.93 g (10 mmol, 2 Äq.) Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30** + 483 mg (2.5 mmol, 0.5 Äq.) nach 17 h, 27 h, 45 h, 53 h, 62 h

1.148 g (10 mmol, 2 Äq.) Indium + 285 mg (2.5 mmol, 0.5 Äq.) nach nach 17 h, 27 h, 45 h, 53 h, 62 h

in 100 mL Ethanol, 60 mL Wasser

Ultraschallbad, 50°C

Gesamte Reaktionsdauer: 4 d

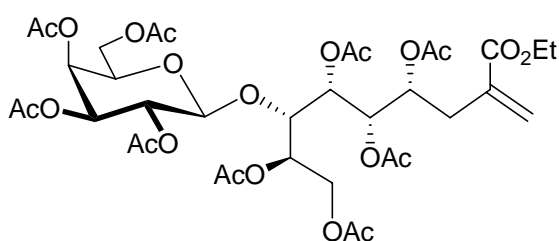
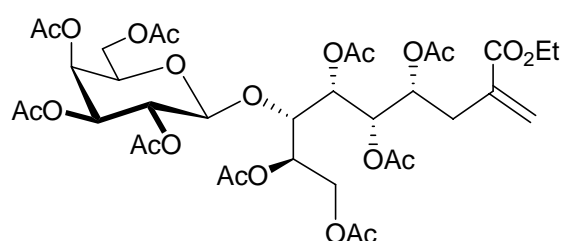
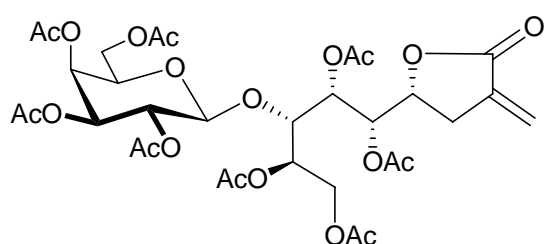
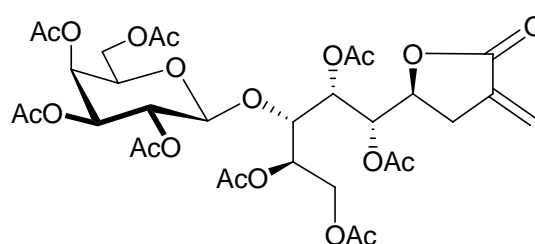
Ausbeute: Rohprodukt aus Edukt, Ester **59/60** : Lacton **61/62** (1:20) nach **AAV 2** sofort weiter peracetyliert

**4,5,6,8,9-Penta-*O*-acetyl-7-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-2,3-dideoxy-2-methylen-D-glycero-D-*ido*-nononsäureethylester (63)**

**4,5,6,8,9-Penta-*O*-acetyl-7-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-2,3-dideoxy-2-methylen-D-glycero-D-*gulo*-nononsäureethylester (64)**

**5,6,8,9-Tetra-*O*-acetyl-7-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-2,3-dideoxy-2-methylen-D-glycero-D-*ido*-nononsäure-1,4-lacton (65)**

**5,6,8,9-Tetra-*O*-acetyl-7-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-2,3-dideoxy-2-methylen-D-glycero-D-*ido*-nononsäure-1,4-lacton (66)**

**63****64****65****66**

**Ansatz:** Rohprodukt aus Lactose, Ester **59/60** und Lacton **61/62** nach **AAV 2** peracetyliert

**Ausbeute:** 138 mg einer nicht trennbaren Mischung aus Lactoseoctaacetat und **63/64** als farbloser Feststoff nach Chromatographie an Flash-Kieselgel (AcOEt/Cyclohexan 5:2)

521 mg (0.68 mmol, 14 %, über 2 Stufen) **65(threo)** : **66(erythro\*)** 6.5:1 als farbloser Feststoff nach Chromatographie an Flash-Kieselgel (AcOEt/Cyclohexan 5:2)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 6.17 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2a}^*$ ), 6.15 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2a}$ ), 5.58 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2b}^*$ ), 5.55 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2b}$ ), 5.45 (dd, 1 H, 6-H), 5.36 (dd, 1 H, 5-H), 5.32 (dd, 1 H, 4'-H), 5.13 (dd, 1 H, 2'-H), 5.01 (m, 2 H, 4-H, 8-H), 4.94 (dd, 1 H, 3'-H), 4.66 (d, 1 H, 1'-H), 4.50 (dd, 1 H, 9a-H), 4.18 (dd, 1 H, 7-H), 4.10-3.98 (m, 3 H, 9-Hb, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.86 (dd, 1 H, 5'-H), 2.93 (ddd, 1 H, 3a-H), 2.64 (ddd, 1 H, 3b-H);  $J_{\text{CH}_{2a},3a} = J_{\text{CH}_{2a},3b} = 2.8$  Hz,  $J_{\text{CH}_{2b},3a} = J_{\text{CH}_{2b},3b} = 2.4$  Hz,  $J_{3a,4} = 5.2$  Hz,  $J_{3b,4} = 8.4$  Hz,  $J_{4,5} = 2.4$  Hz,  $J_{5,6} = 7.9$  Hz,  $J_{5,6} = 2.9$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.8$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.4$  Hz,  $J_{3',4'} = 3.4$  Hz,  $J_{4',5'} = 0.6$  Hz.

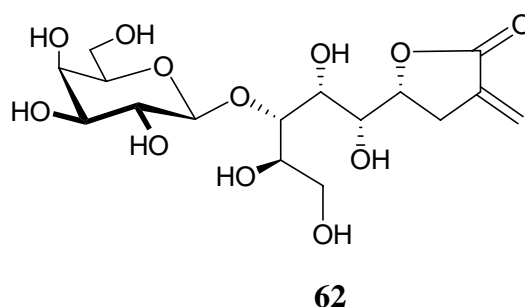
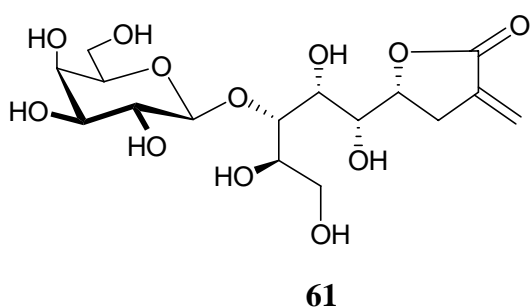
**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 169.4-169.1 ( $\text{OCOCH}_3$ , C-1), 132.4 (C-2), 120.8 ( $\text{CH}_2$ ), 99.6 (C-1'), 73.7 (C-7), 72.8 (C-4), 71.5 (C-5), 70.4 (C-5'), 69.9 (C-3'), 68.9 (C-6, C-8), 67.9 (C-2'), 65.9 (C-4'), 60.6 (C-9, C-6'), 28.7 (C-3).

$\text{C}_{21}\text{H}_{44}\text{O}_{21}$

764.68

**7-O- $\beta$ -D-Galactopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-ido-nononsäure-1,4-lacton (61)**

**7-O- $\beta$ -D-Galactopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-gulo-nononsäure-1,4-lacton (62)**



Indium-vermittelte Allylierung von D-Lactose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / Wasser**

1.71 g (5 mmol) D-Lactose

3.86 g (20 mmol, 4 Äq.) Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30** + 1.93 g (10 mmol, 2 äq.) nach 4 d

2.3 g (20 mmol, 4 Äq.) Indium + 575 mg (5 mmol, 1 Äq.) nach 4 d  
in 100 mL Ethanol, 20 mL Wasser  
Rühren bei 50°C  
Gesamte Reaktionsdauer: 8 d

Ausbeute: 1.03 g (3.17 mmol, 63%) eines leicht verunreinigten Diastereomerengemischs  
**61**(*threo*) : **62**(*erythro*)\* 6.5:1 als farbloser Sirup

Ansatz: Entschützung nach **AAV 5** von 521 mg (0.68 mmol) **65/66**

Ausbeute: 278 mg (0.68 mmol) **61**(*threo*) : **62**(*erythro*)\* 6.5:1 als farbloser Feststoff

$R_f = 0.48$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 6.20 (dd, 1 H, CH<sub>2a</sub>), 5.83 (dd, 1 H, CH<sub>2b</sub>), 5.09 (ddd, 1 H, 4-H), 4.91 (ddd, 1 H, 4-H\*), 4.52 (dd, 1 H, 1'-H), 4.04-3.90 (m, 6 H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H, 9-Ha, 4'-H), 3.80- 3.73 (m, 3 H, 9-Hb, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.70-3.64 (m, 2 H, 3'-H, 5'-H), 3.55 (dd, 1 H, 2'-H), 3.15 (ddd, 1 H, 3-Ha), 2.99 (ddd, 1 H, 3-Hb), 2.90 (ddd, 1 H, 3-Hb);  $J_{CH2a,3a} = J_{CH2a,3b} = 3.0$  Hz,  $J_{CHba,3a} = J_{CH2b,3b} = 2.6$  Hz,  $J_{3a,4} = 8.5$  Hz,  $J_{3b,4} = 5.1$  Hz,  $J_{3a,3b} = 17.4$  Hz,  $J_{4,5} = 2.7$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.8$  Hz,  $J_{1',2'} = 8.0$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.0$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.5$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 176.6 (C-1), 137.0 (C-2), 125.7 (CH<sub>2</sub>), 105.6 (C-1'), 80.8 (C-4), 80.4 (C-5), 77.7 (C-5'), 75.4 (C-3'), 73.9 (C-2'), 75.5, 73.9, 73.2 (C-6, C-7, C-8), 71.4 (C-4'), 65.0 (C-9), 63.7 (C-6'), 32.1 (C-3).

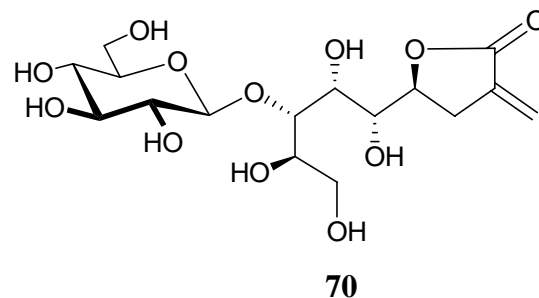
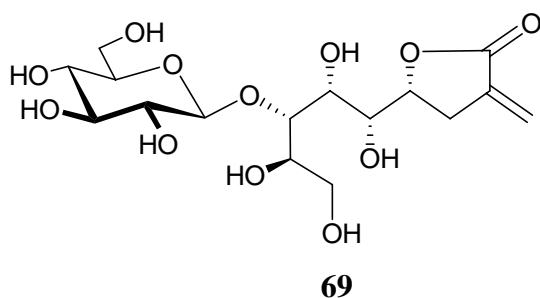
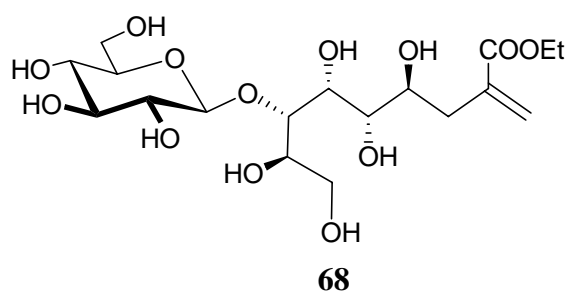
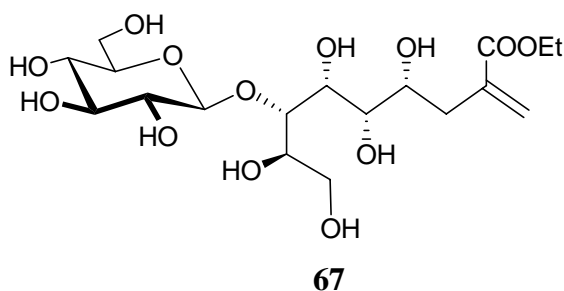
C<sub>16</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub> 410.37

**7-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-ido-nononsäureethylester (67)**

**7-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-gulo-nononsäureethylester (68)**

**7-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-ido-nononsäure-1,4-lacton (69)**

**7-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-gulo-nononsäure-1,4-lacton (70)**



Indium-vermittelte Allylierung von D-Cellobiose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / 0.1 M HCl<sub>aq</sub>**.

1.71 g (5 mmol) D-Cellobiose

1.93 g (10 mmol, 2 Äq.) Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30** + 483 mg (2.5 mmol, 0.5 Äq.) nach 17 h, 27 h, 45 h, 53 h, 62 h

1.148 g (10 mmol, 2 Äq.) Indium + 285 mg (2.5 mmol, 0.5 Äq.) nach 17 h, 27 h, 45 h, 53 h, 62 h

in 100 mL Ethanol, 60 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>.

Ultraschallbad, 50°C

Gesamte Reaktionsdauer: 3.5 d

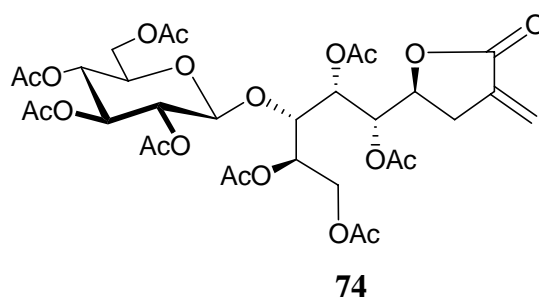
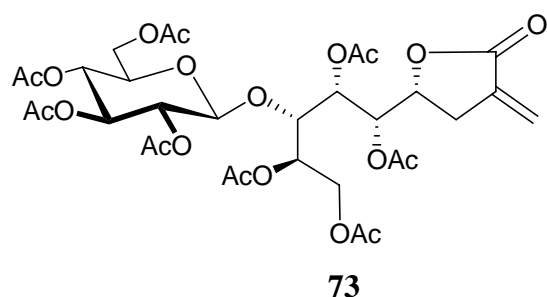
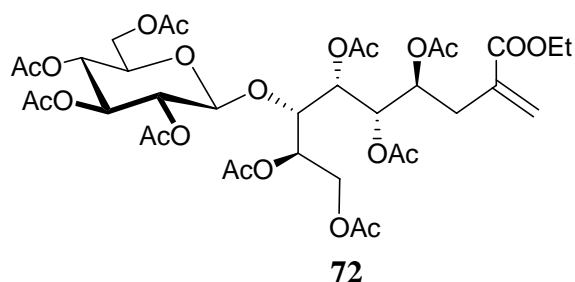
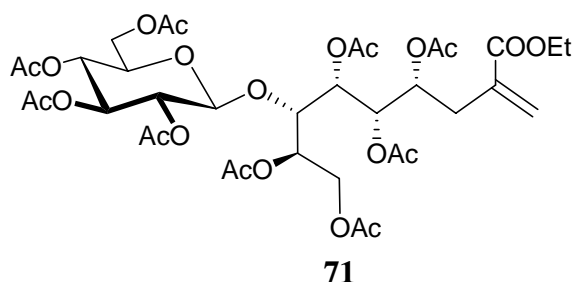
Ausbeute: Rohprodukt aus Edukt, Ester **67/68**- Lacton **69/70** (1:7) nach **AAV 2** sofort weiter peracetyliert

**4,5,6,8,9-Penta-O-acetyl-7-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2,3-dideoxy-D-glycero-D-ido-nononsäureethylester (71)**

**4,5,6,8,9-Penta-O-acetyl-7-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2,3-dideoxy-D-glycero-D-gulo-nononsäureethylester (72)**

**5,6,8,9-Tetra-O-acetyl-7-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2,3-dideoxy-D-glycero-D-ido-nononsäure-1,4-lacton (73)**

**5,6,8,9-Tetra-O-acetyl-7-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2,3-dideoxy-D-glycero-D-gulo-nononsäure-1,4-lacton (74)**



Ansatz: Rohprodukt aus Cellobiose, Ester **67/68** und Lacton **69/70** nach **AAV 2** peracetyliert

Ausbeute: 138 mg einer nicht trennbaren Mischung Cellobioseoctaacetat und **71/72** als farbloser Feststoff

521 mg (0.68 mmol, 14 %, über 2 Stufen) Diastereomerengemisch **73**(*threo*) : **74**(*erythro*\*) 7:1 als farblose Feststoff nach Chromatographie an Flash-Kieselgel (AcOEt/ Cyclohexan 5:2)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 6.24 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2a}^*$ ), 6.22 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2a}$ ), 5.67 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2a}^*$ ), 5.62 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2b}$ ), 5.51 (dd, 1 H, 6-H), 5.38 (dd, 1 H, 5-H), 5.23 (dd, 1 H, 3'-H), 5.07 (m, 3 H, 4-H, 7-H, 4'-H), 5.02 (d, 1 H, 2'-H), 4.79 (d, 1 H, 1'-H), 4.59 (dd 1 H, 9-Ha), 4.26 (dd, 1 H, 7-H), 4.22 (dd, 1 H, 6'-Ha), 4.16 (dd, 1 H, 6'-Hb), 4.05 (dd, 2 H, 9-Hb), 3.73 (ddd, 1 H, 5'-H), 2.97 (ddd, 1 H, 3a-H), 2.68 (ddd, 1 H, 3b-H), 2.10-2.00 ( $\text{OCOCH}_3$ );  $J_{\text{CH}_{2a},3a} = J_{\text{CH}_{2a},3b} = 2.7$  Hz,  $J_{\text{CH}_{2a},3a} = J_{\text{CH}_{2a},3b} = 2.5$  Hz,  $J_{3a,4} = 5.3$  Hz,  $J_{3b,4} = 8.5$  Hz,  $J_{4,5} = 2.4$  Hz,  $J_{5,6} = 8.1$  Hz,  $J_{6,7} = 3.0$  Hz,  $J_{7,8} = 6.6$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 5.4$  Hz,  $J_{9a,9b} = 12.6$  Hz,  $J_{1',2'} = 8.0$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.5$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.4$  Hz,  $J_{5',6a'} = 5.7$  Hz,  $J_{5',6b'} = 2.5$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.5$  Hz.

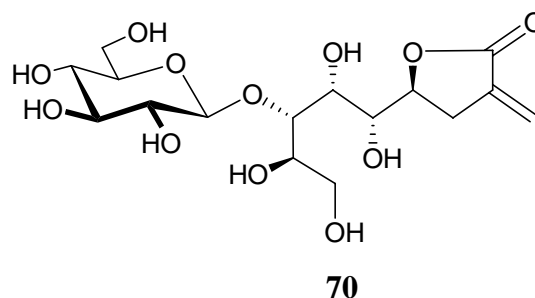
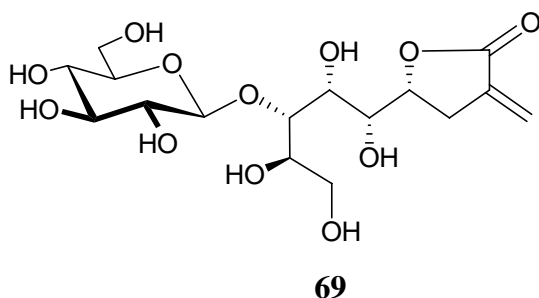
**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 173.5-172.4( $\text{OCOCH}_3$ , C-1), 131.7 (C-2), 122.2 ( $\text{CH}_2$ ), 100.4 (C-1'), 74.8 (C-7), 73.8 (C-4), 72.8, 72.4 (C-5, C-3', C-5'), 71.6 (C-2'), 69.9, 69.7 (C-6, C-8), 68.2 (C-4'), 62.0 (C-6'), 61.5 (C-9), 30.00 (C-3).

$\text{C}_{21}\text{H}_{44}\text{O}_{21}$

764.68

**7-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-ido-nononsäure-1,4-lacton (69)**

**7-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-gulo-nononsäure-1,4-lacton (70)**



Entschüttung von **73/74** nach **AAV 5**

Ansatz: 521 mg (0.68 mmol) **73/74**

Ausbeute: 310 mg (0.68 mmol, quant.) Diastereomerengemisch **69**(*threo*) : **70** (*erythro*\*)  
7:1 als gelber Sirup

$R_f = 0.58$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 6.20 (dd, 1 H, CH<sub>2a</sub>), 5.83 (dd, 1 H, CH<sub>2b</sub>), 5.14 (ddd, 1 H, 4-H), 5.06 (ddd, 1 H, 4-H\*), 4.57 (dd, 1 H, 1'-H), 4.00 (dd, 1 H, 5-H), 4.00.-3.97 (m, 3 H, 6-H, 7-H, 8-H), 3.94 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.86 (dd, 1 H, 6'-Ha), 3.79 (dd, 1 H, 6'-Hb), 3.76 (m, 1 H, 9-Hb), 3.53-3.42 (m, 3 H, 3'-H, 4'-H, 5'-H), 3.33 (dd, 1 H, 2'-H), 3.17 (ddd, 1 H, 3-Ha), 3.00 (ddd, 1 H, 3-Hb);  $J_{CH2a,3a} = J_{CH2a,3b} = 2.9$  Hz,  $J_{CHba,3a} = J_{CH2b,3b} = 2.5$  Hz,  $J_{3a,4} = 7.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 5.0$  Hz,  $J_{3a,3b} = 17.4$  Hz,  $J_{4,5} = 2.5$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.6$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.0$  Hz,  $J_{5',6a'} = 1.6$  Hz,  $J_{5',6a'} = 4.1$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.1$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 176.6 (C-1), 134.0 (C-2), 125.8 (CH<sub>2</sub>), 105.2 (C-1'), 80.6, 80.3 (C-4, C-5), 78.4 (C-3', C-5'), 76.1 (C-2'), 76.1, 75.5, 73.9, (C-6, C-7, C-8), 72.0 (C-4'), 64.0 (C-9), 63.1 (C-6'), 32.1 (C-3).

C<sub>16</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub> 410.37

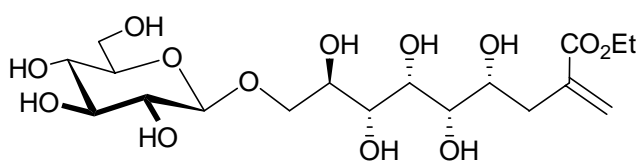
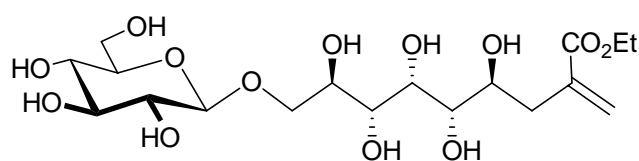
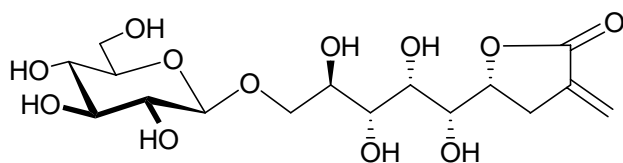
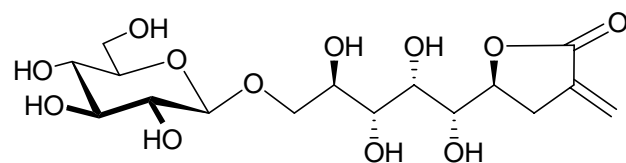


**9-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-ido-nononsäureethylester (75)**

**9-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-gulo-nononsäureethylester (76)**

**9-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-ido-nononsäure-1,4-lacton (77)**

**9-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyl-2,3-didesoxy-2-methylen-D-glycero-D-gulo-nononsäure-1,4-lacton (78)**

**75****76****77****78**

Indium-vermittelte Allylierung von D-Gentibiose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH** / **Wasser**

342 mg (1 mmol) D-Gentibiose

386 mg (2 mmol, 2 Äq.) Ethyl- $\alpha$ -(brommethyl)-acrylat **30** + 386 mg (2.0 mmol, 1 Äq.) nach 20 h

228 mg (2 mmol, 2 Äq.) Indium + 114 mg (1 mmol, 1 Äq.) nach 20 h  
in 30 mL Ethanol, 8 mL Wasser

Ultraschallbad, 50°C

Gesamte Reaktionsdauer: 3 d

Ausbeute: 290 mg (07 mmol, 70 %) Diastereomerengemisch **77**(*threo*) : **78**(*erythro*\*) 6:1  
als farbloser Feststoff mit Spuren an Ester **75**(*threo*) : **76**(*erythro*\*) 6:1

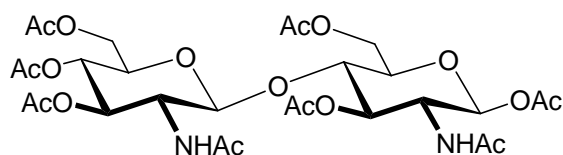
$R_f = 0.56$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  10:10:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 6.04$  (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2a}$ ), 5.67 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2b}$ ), 4.74 (ddd, 1 H, 4-H), 4.35 (d, 1 H,  $1'\text{-H}$ ), 4.00 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.82 (dd, 1 H, 6-H), 3.81-3.75 (m, 2 H, 8-H,  $6'\text{-Ha}$ ), 3.70- 3.65 (m, 2 H, 5-H, 9-Hb), 3.57 (dd, 1 H,  $6'\text{-Hb}$ ), 3.35 (dd, 1 H,  $3'\text{-H}$ ), 3.31 (m, 1 H,  $5'\text{-H}$ ), 3.24 (dd, 1 H,  $4'\text{-H}$ ), 3.18 (dd, 1 H,  $2'\text{-H}$ ), 3.00 (ddd, 1 H, 3-Ha), 2.82 (ddd, 1 H, 3-Ha);  $J_{\text{CH}_{2a},3a} = J_{\text{CH}_{2a},3b} = 2.9$  Hz,  $J_{\text{CH}_{2b},3a} = J_{\text{CH}_{2b},3b} = 2.5$  Hz,  $J_{3a,4} = 8.4$  Hz,  $J_{3b,4} = 5.4$  Hz,  $J_{3a,3b} = 17.5$  Hz,  $J_{4,5} = 3.1$  Hz,  $J_{5,6} = 2.1$  Hz,  $J_{6,7} = 6.8$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.5$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.1$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.3$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.2$  Hz,  $J_{4',5'} = 9.5$  Hz,  $J_{5',6a'} = 2.2$  Hz,  $J_{5',6a'} = 6.0$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.4$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 174.1$  (C-1), 134.5 (C-2), 123.6 ( $\text{CH}_2$ ), 103.4 (C-1'), 78.6 (C-4), 76.4 (C-5'), 76.2 (C-3'), 74.1 (C-7), 73.7 (C-2'), 71.9 (C-9), 70.8 (C-8), 70.4 (C-5, C-6), 70.2 (C-4'), 61.3 (C-6'), 29.8 (C-3).

$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$  410.37

**4-*O*-(2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-1,3,6-tri-*O*-acetyl-2-acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranose (79)**



50 g Chitin aus Krabbenschalen werden unter starkem Rühren in 500 mL  $\text{Ac}_2\text{O}$  suspendiert und nach Kühlung auf  $0^\circ\text{C}$  innerhalb von 30 min mit konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  versetzt. Die gelb-braune Suspension wird über Nacht stehen gelassen, dabei bildet sich eine braune gelatinartige Masse. Man erhitzt anschließend für 8 h bei  $55^\circ\text{C}$ . Die sich hierbei gebildete braune Flüssigkeit wird unter starkem Rühren auf 1 l Eis gegeben. Eine Lösung von 300 g  $\text{NaOAc}$  in 400 mL Wasser wird zugegeben und das Gemisch für 1 h gerührt. Nicht umgesetztes Chitin und unlösliche Verunreinigungen werden filtriert (Das Filterpapier muss auf Grund schneller Verstopfungen des öfteren gewechselt werden. Das Filtrat wird anschließend mit  $\text{CHCl}_3$

(10x200 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit 500 mL ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung neutralisiert und mit 1.5 L Wasser gewaschen. Zur besseren Auftrennung der Phasen wird NaCl zugefügt. Nach Trocknung über MgSO<sub>4</sub> wird das Lösemittel im Vakuum abgezogen und der Rückstand getrocknet.

Das erhaltene Rohprodukt wird in 50 mL MeOH gelöst und erwärmt, bis die Lösung klar ist. Nach 2 Wochen Stehen bei -40°C werden 3.4 g eines leicht gelben Feststoffs erhalten. Zur weiteren Aufreinigung wird das Produktgemisch über Kieselgel (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/i-Pr 28:1:1) getrennt. 1.32 g (1.7%) des Disaccharids als farbloser Feststoff werden erhalten.

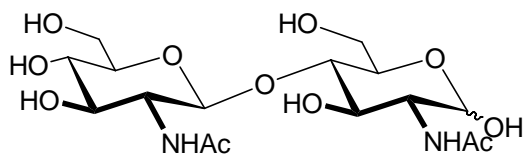
$R_f = 0.33$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/i-Pr 28:1:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 6.18 (m, 1 H, NH'), 6.10 (d, 1 H, 1-H), 5.79 (d, 1 H, NH), 5.22 (dd, 1 H, 3-H), 5.14 (dd, 1 H, 3'-H), 5.06 (dd, 1 H, 4-H'), 4.49 (dd, 1 H, 1'-H), 4.42-4.35 (m, 3 H, 2-H, 6-Ha, 6'-Ha), 4.21q (m, 1 H, 6-Hb), 4.14 (m, 1 H, 6'-Hb), 4.03 (dd, 1 H, 6'-Hb), 3.96 (ddd, 1 H, 2'-H), 3.91 (d, 1 H, 5-H), 3.76 (ddd, 1 H, 4-H), 3.64 (ddd, 1 H, 5'-H), 2.19, 2.14, 2.08, 2.06, 2.02, 2.01, 1.96, 1.93 (s, 24 H, OCOCH<sub>3</sub>);  $J_{1,2} = 3.6$  Hz,  $J_{2,3} = 9.1$  Hz,  $J_{3,4} = 11.9$  Hz,  $J_{4,5} = 9.4$  Hz,  $J_{1',2'} = 8.4$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.6$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.6$  Hz,  $J_{4',5'} = 9.6$  Hz,  $J_{5',6'b} = 2.1$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 171.8, 171.7, 171.2, 170.9, 170.8, 170.6, 169.7, 169.3 (OCOCH<sub>3</sub>), 102.1 (C-1'), 90.9 (C-1), 76.3 (C-4), 73.0 (C-3'), 72.3 (C-5'), 71.1 (C-3, C-5), 68.4 (C-4'), 62.1 (C-6), 62.0 (C-6'), 54.8 (C-2'), 51.5 (C-2), 23.5, 23.4 (NHCOCH<sub>3</sub>), 21.4, 21.1, 21.0, 20.9 (OCOCH<sub>3</sub>).

C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>17</sub> 676.62

**4-O-(2-Acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2-acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose**  
(80)



Entschützung von Chitobioseocatacetat **79** nach **AAV 5**

Ansatz: 280 mg (0.41 mmol) Chitobioseocatacetat **79**

Ausbeute: 71 mg (0.17, 41%) als gelber Feststoff nach Chromatographie an Kieselgel  
(CHCl<sub>3</sub>/MeOH 1:1)

$R_f = 0.39$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/Wasser 10:10:1)

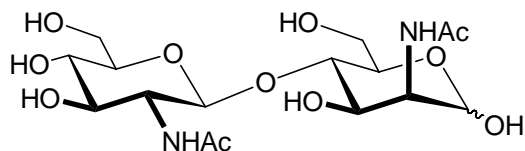
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.20$  (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 4.71 (d, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.61 (d, 1 H, 1 $\beta$ -H'), 4.59 (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H'), 3.95-3.87 (m, 3 H, 2 $\alpha$ -H, 4'-H, 6'-Ha), 3.84-3.72 (m, 4 H, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\beta$ -Ha, 2'-H, 6'-Hb), 3.72-3.61 (m, 5 H, 2 $\beta$ -H, 3 $\beta$ -H, 6 $\beta$ -Hb, 4 $\alpha$ -H, 4 $\beta$ -H), 3.60-3.45 (m, 4 H, 5 $\beta$ -H, 3 $\alpha$ -H, 5 $\alpha$ -H, 5-H'), 2.08, 2.04 (s, 6 H, NHOCOCH<sub>3</sub>);  $J_{1\alpha,2\alpha} = 2.7$  Hz,  $J_{1\beta,2\beta} = 8.02$  Hz,  $J_{1',2'} = 8.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 173.8$  (NCOCH<sub>3</sub> $\beta$ ), 174.7 (NCOCH<sub>3</sub>'), 174.6 (NCOCH<sub>3</sub> $\alpha$ ), 101.6 (C-1'), 94.9 (C-1 $\beta$ ), 90.5 (C-1 $\alpha$ ), 80.0 (C-4 $\alpha$ ), 79.5 (C-4 $\beta$ ), 76.0 (C-5'), 74.7 (C-5 $\beta$ ), 73.6 (C-3'), 73.0 (C-3 $\beta$ ), 70.1 (C-5 $\alpha$ ), 69.8 (C-4'), 69.4 (C-3 $\alpha$ ), 60.6 (C-6'), 60.3 (C-6 $\beta$ ), 60.2 (C-6 $\alpha$ ), 56.2 (C-2 $\beta$ ), 55.7 (C-2'), 53.7 (C-2 $\alpha$ ), 22.3 (s, 3 H, NCOCH<sub>3</sub>'), 22.2 (s, 6 H, NCOCH<sub>3</sub> $\alpha$ , NCOCH<sub>3</sub> $\beta$ ).

C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub> 424.4

**4-O-(2-Acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2-acetamido-2-desoxy  $\beta$ -D-mannose  
(81)**

***epi*-Chitobiose**



Epimerisierung von Chitobiose **80** nach **AAV 6**

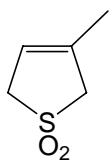
Ansatz: 71 mg (0.17 mmol) Chitobiose **80** in 8 mL MeOH  
19 mg (0.17 mmol)  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$   
34 mg (0.34 mmol)  $\text{Et}_3\text{N}$   
20 min

Ausbeute: 71 mg (0.17 mmol) als farbloser Feststoff. 75% Chitobiose, 25 %  
Epichitobiose **81** ( $\alpha$  /  $\beta$  ca. 1.2:1)

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , Chitobiose):**  $\delta$  = 5.20 (d, 1 H, 1- $\text{H}\alpha$ ), 4.70 (d, 1 H, 1- $\text{H}\beta$ ), 4.59 (d, 2 H, 1'- $\text{H}\alpha$ , 1'- $\text{H}\beta$ );  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{1\alpha,2} = 3.2$  Hz,  $J_{1\beta,2} = 8.4$  Hz.

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , *epi*-Chitobiose):**  $\delta$  = 5.12 (d, 1 H, 1- $\text{H}\alpha$ ), 5.02 (d, 1 H, 1- $\text{H}\beta$ ), 4.57 (d, 2 H, 1'- $\text{H}\alpha$ , 1'- $\text{H}\beta$ );  $J_{1\alpha,2} = 1.8$  Hz,  $J_{1\beta,2} = 1.6$  Hz.

$\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_{11}$  424.4

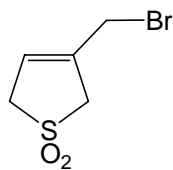
**3-Methyl-2,5-dihydrothiophen-1,1-dioxid (87)**

12 g (17.6 mL, 176 mmol) vorgekühltes Isopren wird in einen Zweihalskolben mit Markierung und Rührfisch vorgelegt und auf  $-40^{\circ}\text{C}$  runtergekühlt (Trockeneis in MeOH). Anschließend wird über einen Schlauch mit Pipette  $\text{SO}_2$ -Gas vorsichtig in den Kolben bis zur Markierung eingeleitet (Vorsicht  $\text{SO}_2$ -Gas: giftig). Hierbei kondensiert das  $\text{SO}_2$ -Gas bereits bei  $-10^{\circ}\text{C}$ . Man versetzt mit 10 mL MeOH und gibt die gekühlte Lösung möglichst schnell in einen dafür vorgesehenen Autoklaven. 0.4 g Hydrochinon werden zum Schluß hinzugegeben, der Autoklav verschlossen und auf Raumtemperatur erwärmt. Man erhitzt anschließend langsam auf  $85^{\circ}\text{C}$  und hält die Temperatur für 4 h. Nach Abkühlen des Autoklaven auf Raumtemperatur wird vorsichtig geöffnet, warmes MeOH zugegeben und der Inhalt abgesaugt. Der abgesaugte Inhalt wird erwärmt, bis eine klare Lösung entsteht, gibt ca. 2 g Aktivkohle, erhitzt bis zum Sieden und filtriert heiß. Die gelbliche klare Lösung wird in Vakuum auf ca 30 mL eingeeengt. Bei Stehenlassen kristallisiert das Produkt aus. Das Produkt wird abgesaugt und nochmals aus MeOH kristallisiert. 14-15 g farblose Kristalle werden erhalten. Einengen der Mutterlauge liefert weiteres Produkt. Die Gesamtasubeute beträgt 18.2-19.1 g (78-82%).

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 5.68 (m, 1 H, 3-H), 3.78 (m, 2 H, 5-Ha, 5-Hb), 3.67 (m, 2 H, 2-Ha, 2-Hb), 1.88 (m, 3 H, 5-H).

**$^{13}\text{C}$ -NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 134.3 (C-2), 118.0 (C-3), 58.2 (C-2), 57.4 (C-4), 18.9 (C-5).

$\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2\text{S}$       132.18

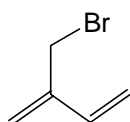
**3-Bromomethyl-2,5-dihydrothiophen-1,1-dioxid (88)**

37.75 g (0.285 mol) Sulfon werden in 500 mL trockenem  $\text{CHCl}_3$  gelöst, mit 50.73 g (0.285 mol) NBS und 3.43 g (0.014 mol) DBPO versetzt und für 20 h auf  $75^\circ\text{C}$  erhitzt. Anschließend wird die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt und das ausgefallene Succinimid abgesaugt. Man engt die Lösung weiter ein, ausgefallenes Succinimid wird abgesaugt. Man wiederholt diesen Vorgang, bis kein Succinimid mehr ausfällt. Anschließend wird das Lösemittel komplett eingeeengt (Vorsicht: Produkt ist sehr hautreizend!). Der erhaltene dunkelorangene Sirup wird in heißem Ethanol gelöst und bei  $-18^\circ\text{C}$  für 3d stehengelassen. Ein farbloser Feststoff fällt aus. Man dekantiert vom Überstand ab und wiederhole die Umkristallisation bis 5 mal. 18 g (85.5 mmol, 30%) eines farblosen Feststoffs werden erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 6.10 (m, 1 H, 4-H), 4.03 (m, 2 H, 5-Ha, 5-Hb), 3.88 (m, 4 H, 1-Ha, 1-Hb, 4-Ha, 4-Hb).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 136.3 (C-2), 124.0 (C-3), 59.2 (C-2), 58.5 (C-4), 31.5 (C-5).

$\text{C}_5\text{H}_7\text{BrO}_2\text{S}$  211.08

**2-Bromomethyl-1,3-butadien (89)**

5.934 g (28 mmol) Bromsulfon werden in einen Rundkolben gegeben und langsam bei 100 mbar auf dem Ölbad erhitzt (Ölbadtemperatur bis  $140^\circ\text{C}$ ). Während der Erwärmung schmilzt der Feststoff und es bildet sich eine tiefbraune Flüssigkeit. Bei weiteren Erhitzen pyrolysiert

das Edukt, SO<sub>2</sub> entweicht und das gewünschte Produkt wird als leicht gelbes Destillat in hoher Reinheit erhalten. Ausbeute: 2.708 g (18 mmol, 66%).

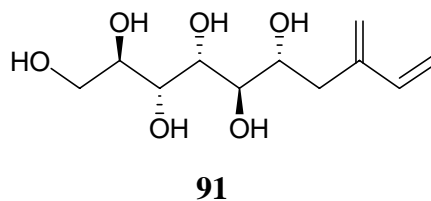
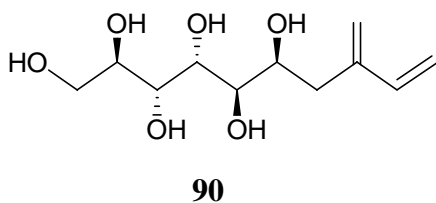
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 6.34 (dd, 1 H, 3-H), 5.42 (d, 1 H, 4-H<sub>E</sub>), 5.39 (s, 1 H, 1-Ha), 4.26 (d, 1 H, 1-Hb, 4-H<sub>Z</sub>), 5.24 (s, 1 H, 1-Hb), 4.11 (s, 3 H, 5-H);  $J_{3,4Z}$  = 10.7 Hz,  $J_{3,4E}$  = 17.7 Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 142.8 (C-2), 135.5 (C-3), 120.6 (C-1), 116.4 (C-4), 31.0 (C-5).

C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>Br      147.01

**5,6,7,8,9,10-Hexa-hydroxy-3-methylen-D-glycero-D-galacto-dec-1-en (90)**

**5,6,7,8,9,10-Hexa-hydroxy-3-methylen-D-glycero-D-gulo-dec-1-en (91)**



Indium-vermittelte Allylierung von D-Mannose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / 0.1 M HCl<sub>aq</sub>**.

90 mg (0.5 mmol) D-Mannose

147 mg (1 mmol, 2 Äq.) Bromisopren **89**

115 mg (1 mmol, 2 Äq.) Indium

in 6 mL Ethanol, 1 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>.

Ultraschallbad

Gesamte Reaktionsdauer: 5 h



Ausbeute: 70 mg (0.28 mmol, 56 %) Diastereomergemisch **90**(*threo*) / **91**(*erythro*\*)  
5.5:1 als farbloser Feststoff

$R_f = 0.63$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

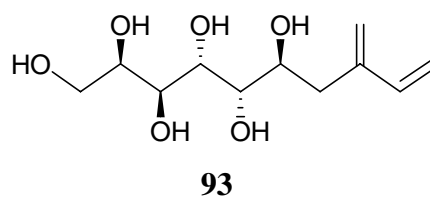
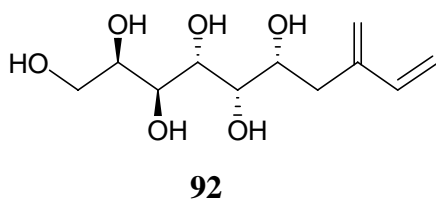
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 6.55 (dd, 1 H, 2-H), 5.36 (d, 1 H, 1-H<sub>E</sub>), 5.25-5.15 (m, 3 H, 1-H<sub>Z</sub>, 11-Ha, 11-Hb), 4.17 (ddd, 1 H, 5-H), 3.92 (dd, 1 H, 6-H), 3.88 (dd, 1 H, 10-Ha), 3.83 (dd, 1 H, 8-H), 3.77 (ddd, 1 H, 9-H), 3.68 (dd, 1 H, 10-Hb), 3.62 (dd, 1 H, 7-H), 2.72 (dm, 1 H, 4\*-Ha), 2.62-2.53 (m, 2 H, 4-Ha, 4-Hb), 2.34 (dd, 1 H, 4\*-Hb);  $J_{1Z,2} = 11.1$  Hz,  $J_{1E,2} = 17.7$  Hz,  $J_{4a,5} = 6.0$  Hz,  $J_{4b,5} = 8.2$  Hz,  $J_{5,6} = 0.9$  Hz,  $J_{6,7} = 9.4$  Hz,  $J_{7,8} = 1.3$  Hz,  $J_{8,9} = 8.7$  Hz,  $J_{9,10a} = 2.8$  Hz,  $J_{9,10b} = 6.3$  Hz,  $J_{10a,10b} = 11.8$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 145.8 (C-3), 141.3 (C-2), 121.6 (C-11), 117.1 (C-1), 73.9 (C-7, C-9), 72.3 (C-6), 71.5 (C-8), 70.8 (C-5), 66.2 (C-10), 38.3 (C-4), 35.3 (C-4\*).

C<sub>11</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub> 248.27

**5,6,7,8,9,10-Hexa-hydroxy-3-methylen-D-glycero-L-gluco-dec-1-en (92)**

**5,6,7,8,9,10-Hexa-hydroxy-3-methylen-D-glycero-L-manno-dec-1-en (93)**



Indium-vermittelte Allylierung von D-Galactose nach **AAV 1**

Ansatz in **EtOH / 0.1 M HCl<sub>aq</sub>**.

90 mg (0.5 mmol) D-Galactose  
147 mg (1 mmol, 2 Äq.) Bromisopren **89**  
115 mg (1 mmol, 2 Äq.) Indium  
in 6 mL Ethanol, 1 mL 0.1 M HCl<sub>aq</sub>.

Ultraschallbad

Gesamte Reaktionsdauer: 6 h

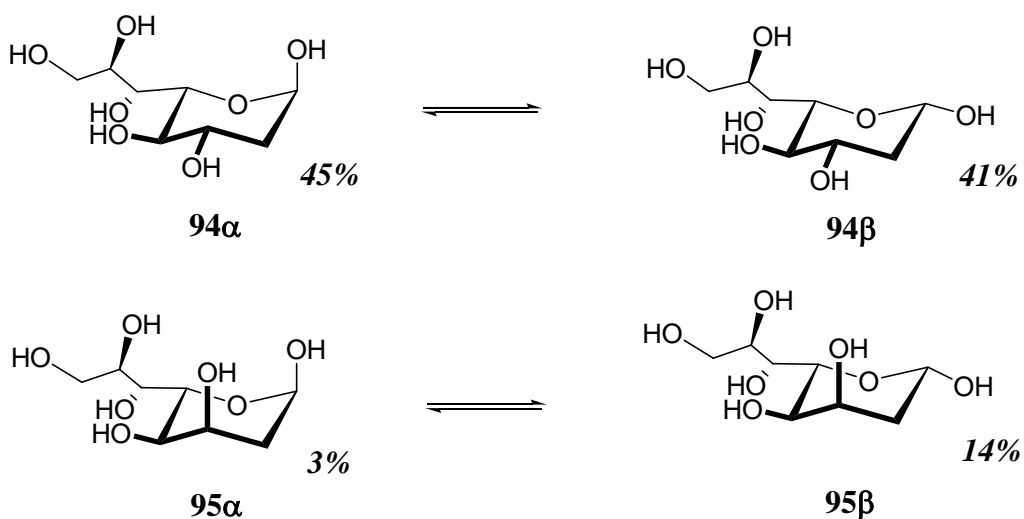
Ausbeute: 104 mg (0.42 mmol, 84 %) Diastereomerengemisch **92**(*threo*) / **93**(*erythro*\*)  
6:1 als farbloser Feststoff

$R_f = 0.56$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 6.50 (dd, 1 H, 2-H), 5.36 (d, 1 H, 1-H<sub>E</sub>), 5.25-5.15 (m, 3 H, 1-H<sub>Z</sub>, 11-Ha, 11-Hb), 4.03 (ddd, 1 H, 5-H), 3.97 (dd, 1 H, 9-H), 3.84 (dd, 1 H, 7-H), 3.79 (dd, 1 H, 6-H), 3.73-3.68 (m, 3 H, 8-H, 10-Ha, 10-Hb), 2.91 (dm, 1 H, 4\*-Ha), 2.67 (dd, 1 H, 4-Ha), 2.34 (dd, 1 H, 4-Hb), 2.26 (dd, 1 H, 4\*-Hb);  $J_{1Z,2} = 11.1$  Hz,  $J_{1E,2} = 17.7$  Hz,  $J_{4a,5} = 3.8$  Hz,  $J_{4b,5} = 9.5$  Hz,  $J_{4a,4b} = 14.2$  Hz,  $J_{5,6} = 5.8$  Hz,  $J_{6,7} = 1.7$  Hz,  $J_{7,8} = 9.1$  Hz,  $J_{8,9} = 1.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 143.0 (C-3), 138.7 (C-2), 119.2 (C-11), 114.7 (C-1), 72.5 (C-6), 71.4 (C-5), 70.9 (C-7), 70.4 (C-9), 69.9 (C-8), 63.7 (C-10), 36.1 (C-4\*), 35.5 (C-4).

C<sub>11</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub> 248.27

**2-Desoxy-D-glycero-D-galacto-octose (94)****2-Desoxy-D-glycero-D-gulo-octose (95)**

Ozonolyse von **5/6** nach **AAV 3** und anschließende reduktive Aufarbeitung

Ansatz: 163 mg (0.74 mmol) Diastereomerengemisch **5/6**

Ausbeute: 200 mg (0.74 mmol, quant.) Epimerengemisch **94α/94β : 95α/95β** 6:1 als farbloser Sirup

$R_f = 0.62$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  10:10:1)

**94α**

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 5.38$  (d, 1 H, 1-H), 3.97 (m, 2 H, 5-H, 3-H), 3.90 (m, 1 H, 5H), 3.90-3.86 (m, 1 H, 8-Ha), 3.80-3.72 (m, 1 H, 7-H), 3.70-3.64 (m, 1 H, 8-Hb), 3.52 (dd, 1 H, 4-H), 2.13 (ddd, 1 H,  $2\text{H}_{\text{eq}}$ ), 1.68 (ddd, 1 H,  $2\text{-H}_{\text{ax}}$ );  $J_{1,2\text{eq}} = 1.0$  Hz,  $J_{1,2\text{ax}} = 3.6$  Hz,  $J_{2\text{eq},2\text{ax}} = 12.0$  Hz,  $J_{2\text{eq},3} = 5.1$  Hz,  $J_{3,4} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5} = 9.8$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 94.2$  (C-1), 76.4 (C-4), 73.6 (C-3), 73.5 (C-5), 70.6 (C-6), 66.1 (C-8), 44.0 (C-2).

**94 $\beta$** 

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 4.93 (dd, 1 H, 1-H), 3.90-3.86 (m, 1 H, 8-Ha), 3.81 (dd, 1 H, 7-H), 3.80-3.72 (m, 2 H, 3-H, 6-H), 3.70-3.64 (m, 1 H, 8-Hb), 3.48 (dd, 1 H, 4-H), 2.26 (ddd, 1 H, 2- $\text{H}_{\text{eq}}$ ), 1.51 (ddd, 1 H, 2- $\text{H}_{\text{ax}}$ );  $J_{1,2\text{eq}} = 1.9$  Hz,  $J_{1,2\text{ax}} = 9.7$  Hz,  $J_{2\text{eq},2\text{ax}} = 12.0$  Hz,  $J_{2\text{eq},3} = 5.0$  Hz,  $J_{3,4} = 8.5$  Hz,  $J_{4,5} = 8.5$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 96.4 (C-1), 73.6, 73.5 (C-3, C-5), 72.8 (C-4), 71.1 (C-3), 70.6 (C-6), 66.1 (C-8), 42.3 (C-2).

**95 $\alpha$** 

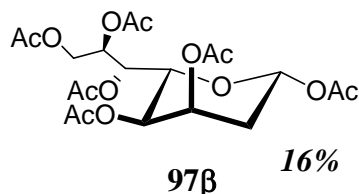
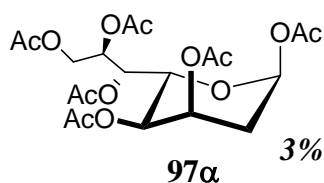
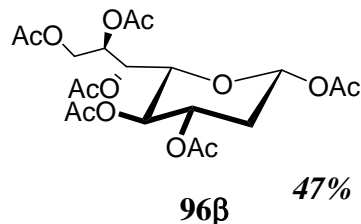
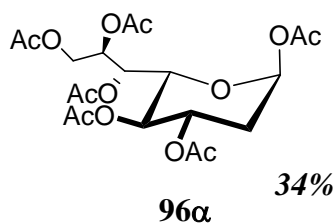
**H NMR (500 MHz):**  $\delta$  = 5.28 (d, 1 H, 1-H), 4.19 (m, 1 H, 3-H), 3.90-3.70 (m, 5 H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-Ha), 3.68 (1, 1 H, 8-Hb), 2.06 (m, 1 H, 2- $\text{H}_{\text{eq}}$ ), 1.94 (m, 1 H, 2 $\text{H}_{\text{ax}}$ ).

**95 $\beta$** 

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.16 (dd, 1 H, 1-H), 4.23 (dd, 1 H, 3-H), 3.93 (m, 1 H, 5-H), 3.90-3.86 (m, 1 H, 8-Ha), 3.85 (m, 1 H, 4-H), 3.80-3.72 (m, 2 H, 7-H, 8-Hb), 2.10 (m, 1 H, 2- $\text{H}_{\text{eq}}$ ), 1.73 (ddd, 1 H, 2- $\text{H}_{\text{ax}}$ );  $J_{1,2\text{eq}} = 2.0$  Hz,  $J_{1,2\text{ax}} = 10.0$  Hz,  $J_{2\text{eq},3} = 3.5$  Hz,  $J_{2\text{ax},3} = 2.8$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 94.1 (C-1), 74.0 (C-5), 71.2 (C-6, C-7), 70.6 (C-3), 68.8 (C-4), 63.8 (C-8), 40.9 (C-2).

$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_7$       224.21

**1,3,4,6,7,8-Hexa-*O*-acetyl-2-desoxy-D-glycero-D-galacto-octo-1,5-pyranose (96)****1,3,4,6,7,8-Hexa-*O*-acetyl-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octo-1,5-pyranose (97)**

Acetylierung von **94 $\alpha$ /94 $\beta$ /95 $\alpha$ /95 $\beta$**  nach AAV 2

Ansatz:      120 mg (0.54 mmol) Diastereomerengemisch **94 $\alpha$ /94 $\beta$ /95 $\alpha$ /95 $\beta$**

Ausbeute :    195 mg (0.41 mmol, 73%) Epimerengemisch **96 $\alpha$ /96 $\beta$  : 97 $\alpha$ /97 $\beta$**  4:1 als farbloser Sirup

$R_f = 0.58$  (AcOEt/n-Hexan/CHCl<sub>3</sub> 7:2:1)

**96 $\alpha$** 

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 6.18 (d, 1 H, 1-H), 5.27 (dd, 1 H, 6-H), 5.20 (m, 2 H, 3-H, 7-H), 4.83 (dd, 1 H, 4-H), 4.25 (dd, 1 H, 8-Ha), 4.04 (m, 1 H, 5-H), 4.02 (m, 1 H, 8-Hb), 2.18 (m, 1 H, 2-Ha), 2.13-2.00 (s, 18 H, COCH<sub>3</sub>) 1.89 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2ax} = 3.2$  Hz,  $J_{3,4} = 9.9$  Hz,  $J_{4,5} = 9.9$  Hz,  $J_{5,6} = 1.9$  Hz,  $J_{6,7} = 7.5$  Hz,  $J_{7,8a} = 2.6$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 169.5-167.6 (COCH<sub>3</sub>), 89.8 (C-1), 68.9 (C-5), 68.3 (C-7), 67.8 (C-3), 66.9 (C-4), 66.2 (C-6), 61.0 (C-8), 33.1 (C-2), 19.9-19.5 (COCH<sub>3</sub>).

**96 $\beta$** 

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 5.59 (d, 1 H, 1-H), 5.33 (dd, 1 H, 6-H), 5.09 (ddd, 1 H, 7-H), 4.99 (ddd, 1 H, 3-H), 4.86 (ddd, 1 H, 4-H), 4.28 (dd, 1 H, 8-Ha), 3.99 (dd, 1 H, 8-Hb), 3.75 (dd, 1 H, 5-H), 2.23 (ddd, 1 H, 2-Ha), 2.10-1.91 (s, 18 H,  $\text{COCH}_3$ ) 1.82 (ddd, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2\text{eq}} = 2.2$  Hz,  $J_{1,2\text{ax}} = 10.3$  Hz,  $J_{2\text{eq},2\text{ax}} = 12.5$  Hz,  $J_{2\text{eq},3} = 5.3$ ,  $J_{2\text{ax},3} = 10.4$  Hz,  $J_{3,4} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5} = 9.8$  Hz,  $J_{5,6} = 2.4$  Hz,  $J_{7,8\text{a}} = 2.4$  Hz,  $J_{7,8\text{b}} = 5.9$  Hz,  $J_{8\text{a},8\text{b}} = 12.6$  Hz.

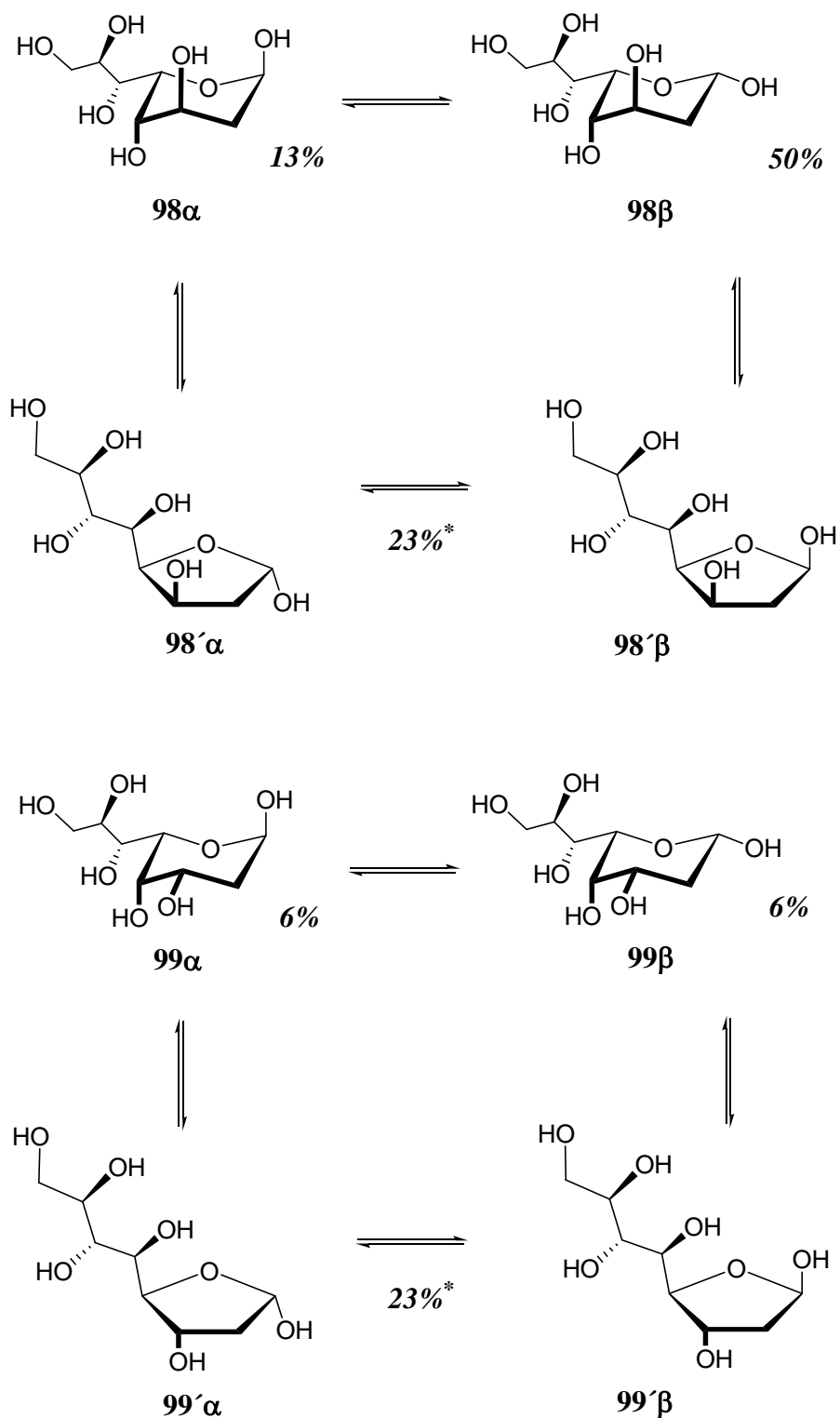
**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 169.5-167.6 ( $\text{COCH}_3$ ), 90.1 (C-1), 71.6 (C-5), 69.7 (C-3), 68.4 (C-7), 66.5 (C-4), 65.4 (C-6), 60.8 (C-8), 33.7 (C-2), 19.9-19.5 ( $\text{COCH}_3$ ).

**97 $\beta$** 

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 5.84 (d, 1 H, 1-H), 5.45 (dd, 1 H, 3-H), 5.34 (m, 1 H, 6-H), 5.14 (ddd, 1 H, 7-H), 4.70 (dd, 1 H, 4-H), 4.33 (dd, 1 H, 8-Ha), 4.18 (dd, 1 H, 5-H), 4.02 (dd, 1 H, 8-Hb), 2.00-1.94 (m, 2 H, 2-Ha, 2-Hb) 2.10-1.91 (s, 18 H,  $\text{COCH}_3$ );  $J_{1,2\text{eq}} = 4.1$  Hz,  $J_{1,2\text{ax}} = 8.4$  Hz,  $J_{3,4} = 3.2$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 2.3$  Hz,  $J_{7,8\text{a}} = 2.4$  Hz,  $J_{7,8\text{b}} = 5.6$  Hz,  $J_{8\text{a},8\text{b}} = 12.6$ .

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 169.5-167.6 ( $\text{COCH}_3$ ), 89.4 (C-1), 70.0 (C-5), 68.6 (C-7), 66.2 (C-6), 66.0 (C-3), 64.7 (C-4), 60.9 (C-8), 33.0 (C-2), 19.9-19.5 ( $\text{COCH}_3$ ).

$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_{13}$  476.43

**2-Desoxy-D-glycero-D-ido-octose (98)****2-Desoxy-D-glycero-D-gulo-octose (99)**

Ozonolyse von **1/2** nach **AAV 3** und anschließende reduktive Aufarbeitung

Ansatz: 170 mg (0.76 mmol) Diastereomerengemisch **1/2**

Ausbeute: 170 mg (0.76 mmol, quant.) **98 $\alpha$ /98 $\beta$  : 99 $\alpha$ /99 $\beta$**  6:1 als farbloser Sirup

$R_f = 0.49$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

### 98 $\alpha$

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.34$  (d, 1 H, 1-H), 3.97 (m, 1 H, 3-H), 3.95-3.63 (m, 6 H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb), 2.18 (ddd, 1 H, 2-H<sub>eq</sub>), 1.77 (m, 1 H, 2-H<sub>eq</sub>);  $J_{1,2eq} = 4.0$  Hz,  $J_{2eq,2ax} = 15.0$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 91.8$  (C-1), 71.2 (C-4), 67.4 (C-3), 63.4 (C-8), 31.0 (C-2).

### 98 $\beta$

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.09$  (m, 1 H, 1-H), 4.06 (m, 1 H, 3-H), 3.97 (dd, 1 H, 5-H), 3.92 (m, 1 H, 6-H), 3.84 (m, 1 H, 7-H), 3.77 (dd, 1 H, 8-Ha), 3.70-3.65 (m, 2 H, 4-H, 8-Hb), 1.87 (m, 2 H, 2-H<sub>ax</sub>, 2-H<sub>eq</sub>);  $J_{1,2eq} = 2.5$  Hz,  $J_{2eq,2ax} = 15.1$  Hz,  $J_{2eq,3} = 6.3$  Hz,  $J_{3,4} = 3.1$  Hz,  $J_{4,5} = 4.8$  Hz,  $J_{7,8a} = 3.2$  Hz,  $J_{8a,8b} = 11.9$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 92.7$  (C-1 $\beta$ ), 73.2 (C-6 $\beta$ ), 72.2 (C-5 $\beta$ ), 71.2 (C-7 $\beta$ ), 68.9, 68.7 (C-3 $\beta$ , C-4 $\beta$ ), 62.5 (C-8 $\beta$ ), 34.2 (C-2 $\beta$ ).

### 99 $\alpha$

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.44$  (d, 1 H, 1-H), 4.10 (m, 1 H, 3-H), 3.98 (m, 1 H, 4-H), 1.95 (dd, 1 H, 2-H<sub>eq</sub>), 1.85 (m, 1 H, 2-H<sub>eq</sub>).

**C-NMR (75 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 91.8$  (C-1), 70.4 (C-4), 69.2 (C-3), 62.7 (C-8) 32.1 (C-2).

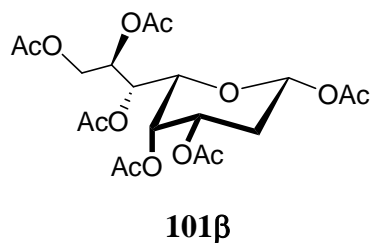
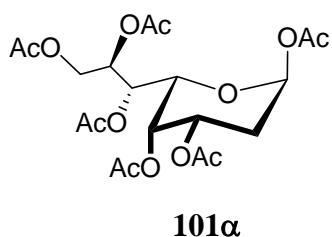
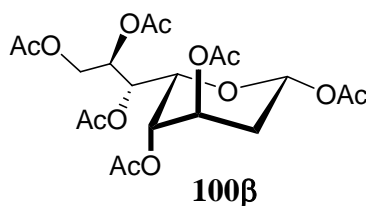
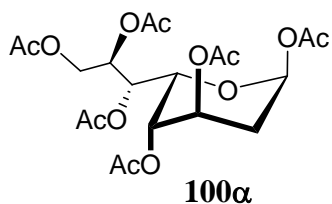
### 99 $\beta$

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 4.85$  (m, 1 H, 1-H), 3.88 (m, 1 H, 3-H), 2.01 (m, 1 H, 2-H<sub>eq</sub>), 1.70 (m, 1 H, 2-H<sub>ax</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 94.3$  (C-1), 35.0 (C-2).

C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub> 224.21



**1,3,4,6,7,8-Hexa-*O*-acetyl-2-desoxy-D-glycero-D-ido-octo-1,5-pyranose (100)****1,3,4,6,7,8-Hexa-*O*-acetyl-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octo-1,5-pyranose (101)**

Acetylierung von **98 $\alpha$ /98 $\beta$ /99 $\alpha$ /99 $\beta$**  nach AAV 2

Ansatz: 170 mg (0.76 mmol) **98 $\alpha$ /98 $\beta$ /99 $\alpha$ /99 $\beta$**

Ausbeute: 176 mg (0.37 mmol, 49%) angereichertes Produkt **100 $\beta$**  als farbloser Sirup  
nach Säulenchromatographie AcOEt/n-Hexan/CHCl<sub>3</sub> 7:2:1  
 $R_f = 0.64$  (AcOEt/n-Hexan/CHCl<sub>3</sub> 7:2:1)

13 mg (0.03 mmol, 4%) **100 $\alpha$ /100 $\beta$ /101 $\alpha$**  Diastereomerengemisch als farbloser  
Sirup nach Säulenchromatographie AcOEt/n-Hexan/CHCl<sub>3</sub> 7:2:1  
 $R_f = 0.64 + 0.57 + 0.47$  (AcOEt/n-Hexan/CHCl<sub>3</sub> 7:2:1)

13 mg (0.03 mmol, 4%) **101 $\beta$**  als farbloser Sirup

$R_f = 0.47$  (AcOEt/n-Hexan/CHCl<sub>3</sub> 7:2:1)

**100 $\alpha$** 

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 6.32 (dd, 1 H, 1-H), 5.45-5.38 (m, 2 H, 3-H, 5-H), 5.28 (dd, 1 H, 6-H), 4.92 (m, 1 H, 7-H), 4.27 (dd, 1 H, 8-H<sub>a</sub>), 4.20 (dd, 1 H, 4-H), 4.16-4.09 (dd, m, 2 H, 5-H, 8-H<sub>b</sub>), 2.36 (ddd, 1 H, 2-H<sub>eq</sub>), 2.17 (m, 1 H, 2-H<sub>ax</sub>), 2.16, 2.12, 2.09, 2.08, 2.07,

2.04 (s, 18 H, COCH<sub>3</sub>);  $J_{1,2eq} = 1.8$  Hz,  $J_{1,2ax} = 6.7$  Hz,  $J_{2eq,2ax} = 9.8$  Hz,  $J_{3,4} = 5.4$  Hz,  $J_{4,5} = 5.4$  Hz,  $J_{5,6} = 2.1$  Hz,  $J_{6,7} = 8.8$  Hz,  $J_{7,8a} = 3.8$  Hz,  $J_{8a,8b} = 12.1$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 169.5, 169.2, 169.1, 168.9, 168.7, 168.6$  (COCH<sub>3</sub>), 95.7 (C-1), 77.7 (C-4), 71.8 (C-5), 68.2 (C-6), 67.3 (C-7), 66.4 (C-3), 60.4 (C-8), 38.7 (C-2), 20.2, 19.9, 19.8, 19.7, 19.6 (COCH<sub>3</sub>).

### 100 $\beta$

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 5.75$  (dd, 1 H, 1-H), 5.39 (dd, 1 H, 6-H), 5.06 (ddd, 1 H, 3-H), 4.91 (ddd, 1 H, 7-H), 4.82 (d, 1 H, 4-H), 4.28 (dd, 1 H, 8-Ha), 4.10 (m, 2 H, 5-H, 8-Hb), 2.12, 2.04, 2.02, 2.01, 2.00, 1.95 (s, 18 H, COCH<sub>3</sub>), 1.99 (m, 1 H, 2-H<sub>eq</sub>), 1.88 (m, 1 H, 2-H<sub>ax</sub>);  $J_{1,2eq} = 2.5$  Hz,  $J_{1,2ax} = 10.2$  Hz,  $J_{2eq,3} = 3.2$  Hz,  $J_{2ax,3} = 6.3$  Hz,  $J_{3,4} = 3.2$  Hz,  $J_{5,6} = 7.8$  Hz,  $J_{6,7} = 3.4$  Hz,  $J_{7,8a} = 4.1$  Hz,  $J_{7,8b} = 6.8$  Hz,  $J_{8a,8b} = 12.0$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 169.3, 169.0, 168.9, 168.6, 168.0, 167.9$  (COCH<sub>3</sub>), 89.5 (C-1), 71.5 (C-5), 69.5 (C-6), 68.7 (C-7), 66.9 (C-3), 64.4 (C-4), 60.4 (C-8), 29.1 (C-2).

### 101 $\alpha$

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 6.24$  (d, 1 H, 1-H), 5.65 (dd, 1 H, 4-H), 5.43 (m, 1 H, 3-H), 5.32 (dd, 1 H, 6-H), 5.04 (ddd, 1 H, 7-H), 4.23-4.12 (m, 3 H, 5-Ha, 8-Ha, 8-Hb), 2.39 (ddd, 1 H, 2-H<sub>eq</sub>), 2.24 (m, 1 H, 2-H<sub>ax</sub>), 2.16, 2.12, 2.09, 2.08, 2.07, 2.04 (s, 18 H, COCH<sub>3</sub>);  $J_{1,2eq} = 5.2$  Hz,  $J_{2eq,2ax} = 15.1$  Hz,  $J_{2eq,3} = 6.3$  Hz,  $J_{3,4} = 1.2$  Hz,  $J_{4,5} = 8.6$  Hz,  $J_{5,6} = 1.5$  Hz,  $J_{6,7} = 8.9$  Hz,  $J_{7,8a} = 3.0$  Hz,  $J_{7,8b} = 4.0$  Hz.

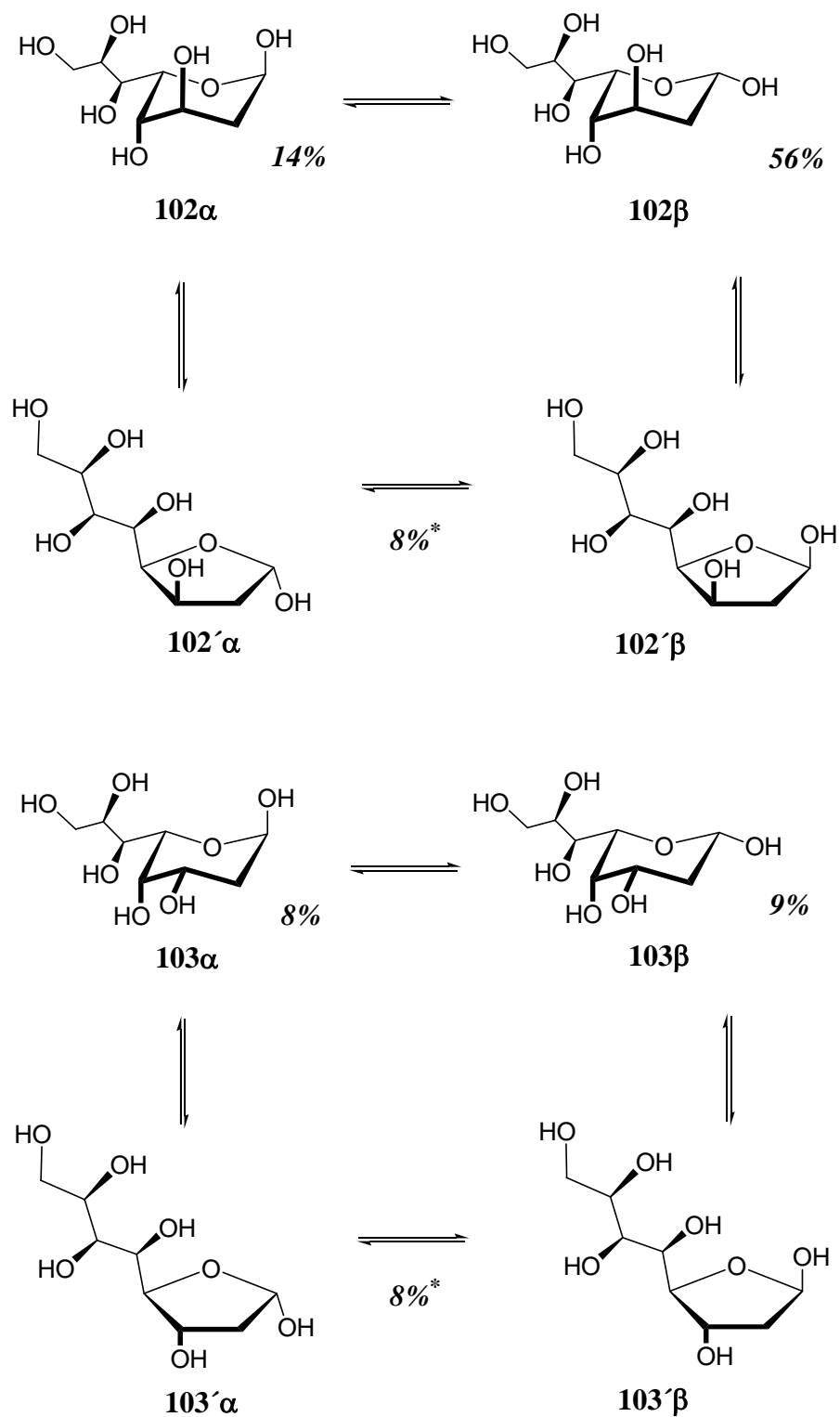
**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 169.5-168.2$  (COCH<sub>3</sub>), 89.1 (C-1), 79.2 (C-5), 71.2 (C-3), 67.6 (C-4), 67.4 (C-6, C-7), 60.4 (C-8), 38.5 (C-2).

### 101 $\beta$

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 6.09$  (d, 1 H, 1-H), 5.34 (dd, 1 H, 6-H), 5.92 (ddd, 1 H, 7-H), 4.92 (m, 1 H, 4-H), 4.87 (ddd, 1 H, 3-H), 4.29 (m, 1 H, 5-H), 4.16-4.08 (m, 2 H, 8-Ha, 8-Hb), 2.10 (m, 1 H, 2-H<sub>eq</sub>), 2.00 (m, 1 H, 2-H<sub>ax</sub>), 2.16, 2.12, 2.09, 2.08, 2.07, 2.04 (s, 18 H, COCH<sub>3</sub>);  $J_{1,2ax} = 3.5$  Hz,  $J_{4,5} = 6.7$  Hz,  $J_{5,6} = 4.1$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 169.5, 169.2, 169.1, 168.9, 168.7, 168.6 ( $\text{COCH}_3$ ), 95.5 (C-1), 79.2 (C-5), 71.2 (C-3), 67.6 (C-4), 67.5 (C-6), 67.6 (C-7), 60.5 (C-8), 38.7 (C-2).

$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_{13}$       476.43

**2-Desoxy-D-glycero-L-gluco-octose (102)****2-Desoxy-D-glycero-L-manno-octose (103)**

Ozonolyse von **9/10** nach **AAV 3** und anschließende reduktive Aufarbeitung

Ansatz: 1 g (4.52 mmol) Diastereomerengemisch **9/10**

Ausbeute: 1.012 g (4.52 mmol, quant.) Epimerengemisch **102 $\alpha$ /102 $\beta$  : 103 $\alpha$ /103 $\beta$**  8:1 als farbloser Sirup

$R_f = 0.58$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

### **102 $\alpha$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.28 (d, 1 H, 1-H), 4.04 (m, 1 H, 3-H), 3.88 (m, 1 H, 4-H), 4.00-3.75 (m, 3 H, 5-H, 6-H, 7-H), 3.70 (m, 2 H, 8-Ha, 8-Ha), 2.14 (ddd, 1 H, 2-H<sub>eq</sub>), 1.80 (m, 1 H, 2-H<sub>ax</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 94.3 (C-1), 74.6-66.1 (C-3, C-4, C-5, C-6, C-7), 66.0 (C-8), 33.1 (C-2).

### **102 $\beta$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.08 (dd, 1 H, 1-H), 4.14 (ddd, 1 H, 3-H), 3.93 (m, 2 H, 5-H, 7-H), 3.82 (dd, 1 H, 6-H), 3.75 (d, 1 H, 4-H), 3.70 (m, 2 H, 8-Ha, 8-Ha), 1.86 (m, 2 H, 2-H<sub>eq</sub>, 2-H<sub>ax</sub>);  $J_{1,2eq} = 2.9$  Hz,  $J_{1,2ax} = 9.3$  Hz,  $J_{5,6} = 1.5$  Hz,  $J_{6,7} = 8.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 95.1 (C-1), 74.6 (C-5), 73.0 (C-7), 72.9 (C-3), 70.6 (C-6), 67.3 (C-4), 66.0 (C-8), 36.7 (C-2).

### **103 $\alpha$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.39 (d, 1 H, 1-H), 4.10 (m, 1 H, 3-H), 4.02 (m, 1 H, 4-H), 4.00-3.75 (m, 3 H, 5-H, 6-H, 7-H), 3.70 (m, 2 H, 8-Ha, 8-Ha), 1.95-1.80 (m, 2 H, 2-H<sub>eq</sub>, 2-H<sub>ax</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 94.5 (C-1), 74.6-66.1 (C-3, C-4, C-5, C-6, C-7), 66.0 (C-8), 34.7 (C-2).

**103 $\beta$** 

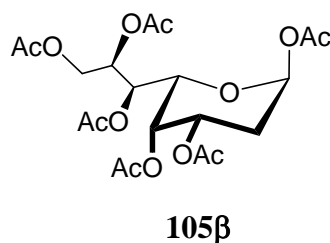
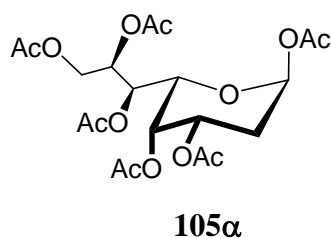
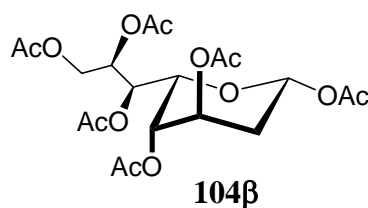
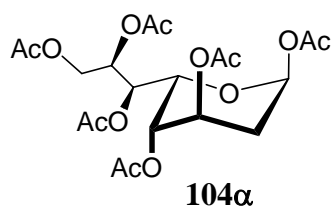
**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 4.85 (m, 1 H, 1-H), 4.00-3.50 (m, 5 H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H), 3.70 (m, 2 H, 8-H<sub>a</sub>, 8-H<sub>b</sub>), 2.02 (m, 1 H, 2-H<sub>eq</sub>), 1.66 (ddd, 1 H, 2-H<sub>ax</sub>).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 96.9 (C-1), 74.6-66.1 (C-3, C-4, C-5, C-6, C-7), 66.0 (C-8), 37.5 (C-2).

$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_7$       224.21

**1,3,4,6,7,8-Hexa-*O*-acetyl-2-desoxy-D-glycero-L-gulo-octo-1,5-pyranose (104)**

**1,3,4,6,7,8-Hexa-*O*-acetyl-2-desoxy-D-glycero-L-manno-octo-1,5-pyranose (105)**



Acetylierung von **102 $\alpha$ /102 $\beta$ /103 $\alpha$ /103 $\beta$**  nach AAV 2

Ansatz:      250 mg (1.2 mmol) Diastereomerengemisch **102 $\alpha$ /102 $\beta$ /103 $\alpha$ /103 $\beta$**

Ausbeute:    400 mg (0.84 mmol) an **104 $\beta$**  als farbloser Sirup nach Säulenchromatographie  
(AcOEt/n-Hexan/ $\text{CHCl}_3$  7:2:1)

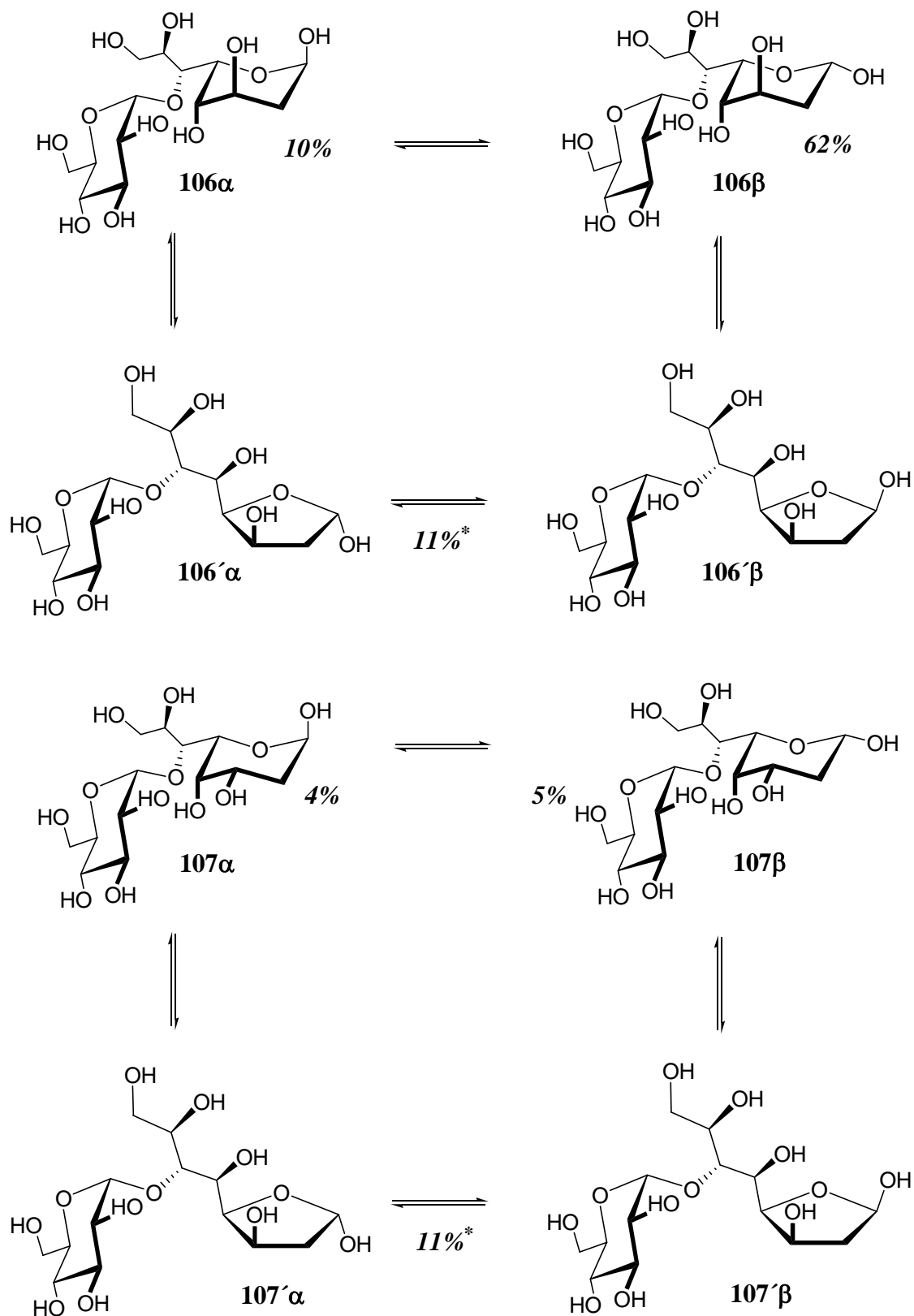
$R_f$  = 0.78 (AcOEt/n-Hexan/ $\text{CHCl}_3$  7:2:1)

**104β**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 5.77 (dd, 1 H, 1-H), 5.30 (m, 2 H, 6-H, 7-H), 5.03 (ddd, 1 H, 3-H), 4.67 (m, 1 H, 4-H), 4.20 (dd, 1 H, 8-Ha), 4.05 (dd, 1 H, 5-H), 3.90 (dd, 1 H, 8-Hb), 2.10-1.90 (s, m, 20 H, 2-Ha, 2-Hb, COCH<sub>3</sub>);  $J_{1,2eq} = 2.5$  Hz,  $J_{1,2ax} = 10.3$  Hz,  $J_{4,5} = 1.4$  Hz,  $J_{5,6} = 9.5$  Hz,  $J_{7,8a} = 5.6$  Hz,  $J_{7,8b} = 6.3$  Hz,  $J_{8a,8b} = 11.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 169.4-167.8 (COCH<sub>3</sub>), 89.4 (C-1), 70.2 (C-5), 67.8 (C-6), 66.6 (C-3), 66.3 (C-7), 62.7 (C-3), 60.7 (C-8), 28.1 (C-2), 20.0-19.5 (COCH<sub>3</sub>).

C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>13</sub>      476.43

**6-O- $\alpha$ -D-Glucosyl-2-desoxy-D-glycero-D-ido-octose (106)****6-O- $\alpha$ -D-Glucosyl-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octose (107)**

Ozonolyse von **13/14** nach **AAV 3** und anschließende reduktive Aufarbeitung



Ansatz: 384 mg (1 mmol) Diastereomerengemisch **13/14**

Ausbeute: 390 mg (1 mmol, quant.) Epimerengemisch **106 $\alpha$ /106 $\beta$ /107 $\alpha$ /107 $\beta$**  :  
**106' $\alpha$ /106' $\beta$ /107' $\alpha$ /107' $\beta$**  89:11 als farbloser Sirup

$R_f = 0.71$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

### **106 $\alpha$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.33 (d, 1 H, 1-H), 5.22 (dd, 1 H, 1'-H), 4.10-3.95 (m, 5 H, 3-H, 5-H, 6-H, 7-H, 5'-H), 3.83 (dd, 1 H, 6'-Ha), 3.80 (m, 1 H, 6'-Hb), 3.75-3.70 (m, dd, 3 H, 3'-H, 8-Ha, 8-Hb), 3.60 (d, 1 H, 4-H), 3.55 (m, 1 H, 2'-H), 3.44 (dd, 1 H, 4'-H), 2.02 (dm, 1 H, 2-Ha), 1.77 (dm, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2ax} = 4.3$  Hz,  $J_{1',2'} = 4.0$  Hz,  $J_{3',4'} = 10.0$  Hz,  $J_{5',6'a} = 2.5$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.5$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 102.8 (C-1'), 94.1 (C-1).

### **106 $\beta$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.25 (d, 1 H, 1'-H), 5.08 (dd, 1 H, 1-H), 4.10-3.95 (m, 5 H, 6-H, 3-H, 5-H, 7-H, 5'-H), 3.83 (dd, 1 H, 6'-Ha), 3.80 (m, 1 H, 6'-Hb), 3.75-3.70 (m, dd, 3 H, 3'-H, 8-Ha, 8-Hb), 3.60 (d, 1 H, 4-H), 3.53 (dd, 1 H, 2'-H), 3.44 (dd, 1 H, 4'-H), 1.87 (m, 2 H, 2-Ha, 2-Hb);  $J_{1ax,2} = 8.2$  Hz,  $J_{1eq,2} = 4.1$  Hz,  $J_{3,4} = 3.4$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.9$  Hz,  $J_{3',4'} = 10.0$  Hz,  $J_{5',6'a} = 2.5$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.5$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 102.6 (C-1'), 95.0 (C-1), 83.5 (C-5), 77.6 (C-6), 76.0 (C-3'), 75.0 (C-5'), 74.7 (C-2'), 74.3 (C-7), 72.2 (C-4'), 71.4 (C-3), 69.4 (C-4), 64.5 (C-8), 63.2 (C-6'), 36.5 (C-2).

### **106' $\alpha$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.70 (m, 1 H, 1-H), 2.51 (dd, 1 H, 2-Ha), 2.40 (dd, 1 H, 2-Hb).

### **106' $\beta$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.70 (m, 1 H, 1-H), 2.41 (dd, 1 H, 2-Ha), 2.33 (m, 1 H, 2-Hb).

**107 $\alpha$** 

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.42 (d, 1 H, 1-H), 5.40 (dd, 1 H, 1'-H), 4.10-3.95 (m, 5 H, 3-H, 5-H, 6-H, 7-H, 5'-H), 3.83 (dd, 1 H, 6'-Ha), 3.80 (m, 1 H, 6'-Hb), 3.75-3.70 (m, dd, 3 H, 3'-H, 8-Ha, 8-Hb), 3.60 (d, 1 H, 4-H), 3.55 (m, 1 H, 2'-H), 3.44 (dd, 1 H, 4'-H), 1.96 (dm, 1 H, 2-Ha), 1.86 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2\text{ax}} = 3.4$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.9$  Hz,  $J_{3',4'} = 10.0$  Hz,  $J_{5',6'a'} = 2.5$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.5$  Hz.

**107 $\beta$** 

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.12 (d, 1 H, 1'-H), 4.83 (dd, 1 H, 1-H), 4.10-3.95 (m, 5 H, 3-H, 5-H, 6-H, 7-H, 5'-H), 3.83 (dd, 1 H, 6'-Ha), 3.80 (m, 1 H, 6'-Hb), 3.75-3.70 (m, dd, 3 H, 3'-H, 8-Ha, 8-Hb), 3.60 (d, 1 H, 4-H), 3.55 (m, 1 H, 2'-H), 3.44 (dd, 1 H, 4'-H), 2.02 (dm, 1 H, 2-Ha), 1.67 (ddd, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2\text{ax}} = 2.1$  Hz,  $J_{1',2'} = 4.0$  Hz,  $J_{3',4'} = 10.0$  Hz,  $J_{5',6'a'} = 2.5$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.5$  Hz.

**106' $\alpha$** 

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.56 (m, 1 H, 1-H).

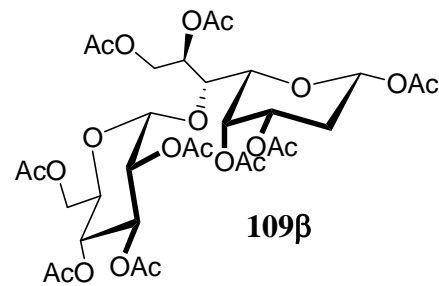
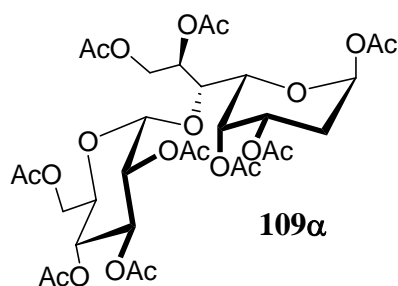
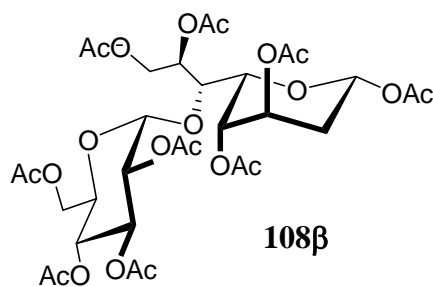
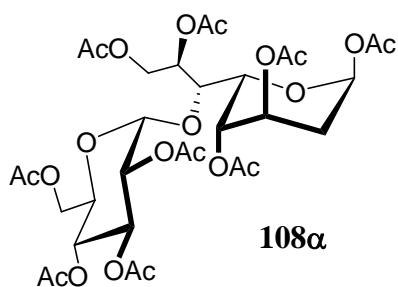
**107' $\beta$** 

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.53 (m, 1 H, 1-H).

$\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$       386.35

**1,3,4,7,8-Penta-*O*-acetyl-6-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)-2-desoxy-D-glycero-D-ido-octo-1,5-pyranose (108)**

**1,3,4,7,8-Penta-*O*-acetyl-6-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octo-1,5-pyranose (109)**



Acetylierung von **106 $\alpha$ /106 $\beta$ /107 $\alpha$ /107 $\beta$**  nach AAV 2

Ansatz: 185 mg (0.48 mmol) **106 $\alpha$ /106 $\beta$ /107 $\alpha$ /107 $\beta$**

Ausbeute: 9 mg (0.01 mmol, 2.5 %) **108 $\alpha$**  als farbloser Sirup nach Säulenchromatographie (AcOEt/n-Hexan/CHCl<sub>3</sub> 7:2:1)

$R_f = 0.36$  (AcOEt/n-Hexan/CHCl<sub>3</sub> 7:2:1)

80 mg (0.11 mmol, 22 %) **108 $\beta$**  als farbloser Sirup nach Säulenchromatographie (AcOEt/n-Hexan/CHCl<sub>3</sub> 7:2:1)

$R_f = 0.52$  (AcOEt/n-Hexan/CHCl<sub>3</sub> 7:2:1)

**108 $\alpha$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 6.25 (dd, 1 H, 1-H), 5.40-5.32 (m, 3 H, 3-H, 5-H, 3'-H), 5.20 (ddd, 1 H, 7-H), 5.14 (dd, 1 H, 1'-H), 5.07 (dd, 1 H, 4'-H), 4.92 (dd, 1 H, 2'-H), 4.55 (dd, 1 H, 8-Ha), 4.56 (dd, 1 H, 4-H), 4.28 (dd, 1 H, 6'-Ha), 4.22-4.14 (m, 2 H, 8-Hb, 5'-H), 4.07

(dd, 1 H, 6'-Hb), 3.92 (dd, 1 H, 6-H), 2.46 (m, 1 H, 2-Ha), 2.19 (m, 1 H, 2-Hb), 2.15-1.98 (24 H, COOCH<sub>3</sub>);  $J_{1ax,2} = 5.5$  Hz,  $J_{1eq,2} = 1.2$  Hz,  $J_{3,4} = 5.6$  Hz,  $J_{4,5} = 5.6$  Hz,  $J_{5,6} = 3.4$  Hz,  $J_{6,7} = 4.2$  Hz,  $J_{7,8a} = 2.6$  Hz,  $J_{7,8b} = 8.1$  Hz,  $J_{8a,8b} = 12.4$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.8$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.3$  Hz,  $J_{3',4'} = 10.0$  Hz,  $J_{4',5'} = 10.5$  Hz,  $J_{5',6'a} = 2.3$  Hz,  $J_{5',6'b} = 4.1$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.4$  Hz.

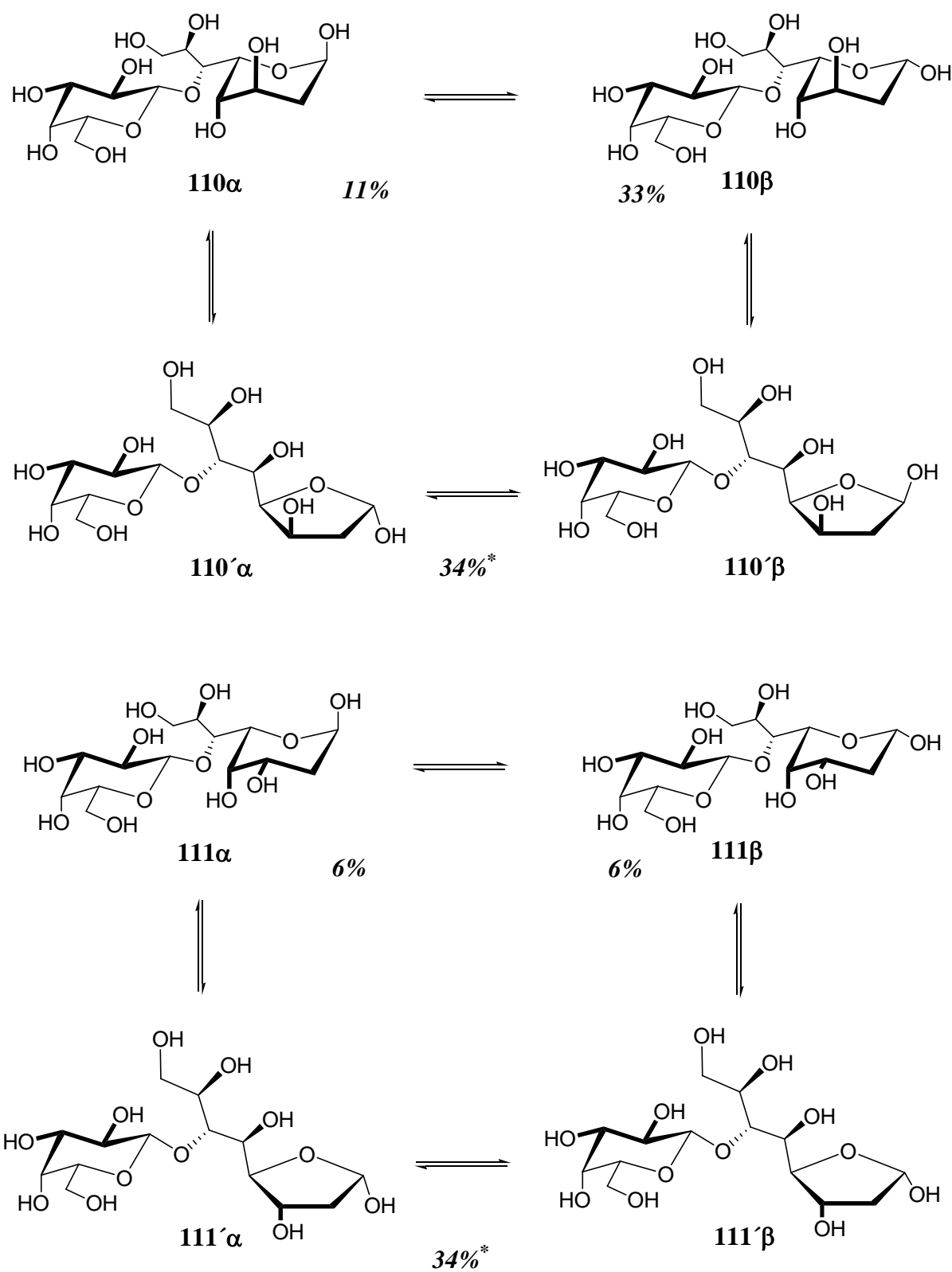
**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 170.7$ -169.6 (OCOCH<sub>3</sub>), 96.9 (C-1), 96.5 (C-1'), 78.9 (C-4), 77.5 (C-6), 71.9 (C-3'), 71.1 (C-7), 70.8 (C-2'), 70.0, 69.1 (C-3, C-5), 68.5 (C-5'), 68.2 (C-4'), 62.5 (C-8), 61.6 (C-6'), 39.0 (C-2), 21.3-20.7 (24 H, OCOCH<sub>3</sub>).

### 108 $\beta$

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.82$  (dd, 1 H, 1-H), 5.55 (d, 1 H, 1'-H), 5.37 (dd, 1 H, 3'-H), 5.12 (dd, 1 H, 3-H), 5.06 (dd, 1 H, 4'-H), 4.95 (dd, 1 H, 2'-H), 4.92 (ddd, 1 H, 7-H), 4.86 (dd, 1 H, 4-H), 4.50 (dd, 1 H, 8-Ha), 4.30 (dd, 1 H, 6'-Ha), 4.28 (m, 1 H, 5'-H), 4.21 (dd, 1 H, 8-Hb), 4.18 (dd, 2 H, 5-H, 6-H), 3.97 (dd, 1 H, 6'-Hb), 2.15-1.98 (24 H, COOCH<sub>3</sub>), 1.93 (m, 2 H, 2-Ha, 2-Hb);  $J_{1ax,2} = 8.3$  Hz,  $J_{1eq,2} = 4.3$  Hz,  $J_{2ax,3} = 6.3$  Hz,  $J_{2eq,3} = 3.1$  Hz,  $J_{3,4} = 3.3$  Hz,  $J_{4,5} = 1.0$  Hz,  $J_{5,6} = 8.5$  Hz,  $J_{6,7} = 1.4$  Hz,  $J_{7,8a} = 3.2$  Hz,  $J_{7,8b} = 8.1$  Hz,  $J_{8a,8b} = 12.5$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.8$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.4$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.7$  Hz,  $J_{4',5'} = 9.8$  Hz,  $J_{5',6'a} = 2.3$  Hz,  $J_{5',6'b} = 4.3$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.2$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 172.6$ -170.9 (OCOCH<sub>3</sub>), 97.8 (C-1'), 92.6 (C-1), 78.1, 77.1 (C-5, C-6), 72.8 (C-7), 72.0 (C-3'), 71.6 (C-2'), 70.6 (C-4'), 69.5 (C-5'), 69.4 (C-3), 67.2 (C-4), 63.8 (C-6', C-8), 32.2 (C-2), 23.0-22.6 (24 H, OCOCH<sub>3</sub>).

C<sub>32</sub>H<sub>44</sub>O<sub>21</sub>      764.68

**6-O- $\beta$ -D-Galactosyl-2-desoxy-D-glycero-D-ido-octose (110)****6-O- $\beta$ -D-Galactosyl-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octose (111)**

Ozonolyse von **23/24** nach **AAV 3** und anschließende reduktive Aufarbeitung

Ansatz: 125 mg (0.33 mmol) Diastereomerengemisch **23/24**

Ausbeute: 125 mg (1 mmol, quant.) Produktgemisch **110 $\alpha$ /110 $\beta$ /111 $\alpha$ /111 $\beta$**   
**110' $\alpha$ /110' $\beta$ /111' $\alpha$ /111' $\beta$**  und als farbloser Sirup.

$R_f = 0.63$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

### **110 $\alpha$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.28 (dd, 1 H, 1-H), 4.56 (dd, 1 H, 1'-H), 4.01 (m, 1 H, 3-H), 3.95-3.66 (m, 9 H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb, 4'-H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.66-3.58 (m, 2 H, 3'-H, 5'-H), 3.54 (dd, 1 H, 2'-H), 2.40 (ddd, 1 H, 2-Ha), 1.67 (dm, 1 H, 2-Hb).

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 103.9 (C-1'), 92.2 (C-1), 80.4 (C-6), 76.0-66.4 (C-3, C-4, C-5, C-7, C-2', C-3', C-4', C-5'), 62.7-61.5 (C-8, C-6'), 32.1 (C-2).

### **110 $\beta$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.02 (dd, 1 H, 1-H), 4.56 (dd, 1 H, 1'-H), 4.01 (ddd, 1 H, 3-H), 3.95-3.66 (m, 9 H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb, 4'-H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.66-3.58 (m, 2 H, 3'-H, 5'-H), 3.54 (dd, 1 H, 2'-H), 1.81 (dd, 2 H, 2-Ha, 2-Hb);  $J_{1,2ax} = 6.2$  Hz,  $J_{2ax,3} = 3.1$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 104.1 (C-1'), 93.3 (C-1), 81.0 (C-6), 76.0-66.4 (C-3, C-4, C-5, C-7, C-2', C-3', C-4', C-5'), 62.7-61.5 (C-8, C-6'), 34.3 (C-2).

### **111 $\alpha$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.36 (d, 1 H, 1-H), 1.91 (dd, 1 H, 2-Ha), 1.77 (dd, 1 H, 2-Hb);  $J_{1ax,2} = 3.5$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 92.1 (C-1), 32.3 (C-2).

### **111 $\beta$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 4.78 (m, 1 H, 1-H), 1.95 (m, 1 H, 2-Ha), 1.67 (m, 1 H, 2-Hb).

**110' $\alpha$ /110' $\beta$ /111' $\alpha$ /111' $\beta$**

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.64 (dd, 1 H, 1-H), 4.62 (d, 1 H, 1'-H), 4.63 (m, 1 H, 4-H), 4.31 (m, 1 H, 3-H), 4.10-3.45 (m, 8 H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb, 4'-H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.66-3.58 (m, 2 H, 3'-H, 5'-H), 3.54 (dd, 1 H, 2'-H), 2.28 (dm, 1 H, 2-Ha), 2.03 (ddd, 1 H, 2-Hb).

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 104.0 (C-1'), 97.7 (C-1), 82.6-66.4 (C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-2', C-3', C-4', C-5'), 62.7-61.5 (C-8, C-6'), 43.8 (C-2).

**110'α/110'β/111'α/111'β**

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.45 (dd, 1 H, 1-H), 2.28 (dm, 1 H, 2-Ha), 1.95 (dm, 1 H, 2-Hb).

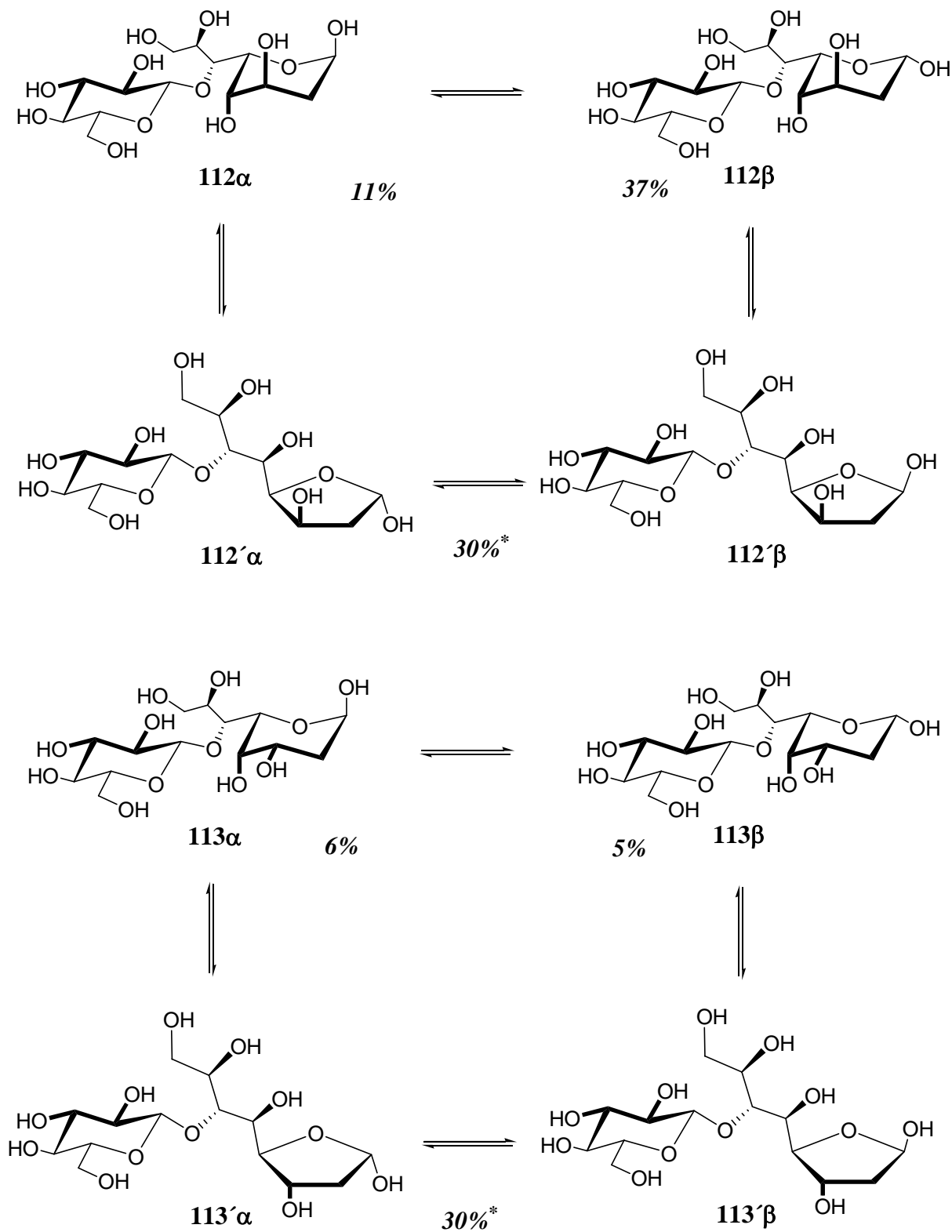
**110'α/110'β/111'α/111'β**

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.57 (m, 1 H, 1-H).

**110'α/110'β/111'α/111'β**

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.57 (m, 1 H, 1-H).

$\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$      386.35

**6-O- $\beta$ -D-Glucosyl-2-desoxy-D-glycero-D-ido-octose (112)****6-O- $\beta$ -D-Glucosyl-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octose (113)**

Ozonolyse von **25/26** nach AAV 3 und anschließende reduktive Aufarbeitung



Ansatz: 140 mg (0.36 mmol) Diastereomerengemisch **25/26**

Ausbeute: 140 mg (0.36 mmol, quant.) Produktgemisch **112 $\alpha$ /112 $\beta$ /113 $\alpha$ /113 $\beta$**   
**112' $\alpha$ /112' $\beta$ /113' $\alpha$ /113' $\beta$**  und als farbloser Sirup.

$R_f = 0.63$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

### **112 $\alpha$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.18 (m, 1 H, 1-H), 4.49 (d, 1 H, 1'-H), 4.00-3.15 (m, 13 H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb, 2'-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 6'-Ha, 6'-Hb), 1.79 (m, 1 H, 2-Ha), 1.68 (m, 1 H, 2-Hb).

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 103.0 (C-1'), 93.1 (C-1), 82.2-68.3 (C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-2', C-3', C-4', C-5'), 62.6-60.8 (C-8, C-6'), 33.5 (C-2).

### **112 $\beta$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 4.92 (m, 1 H, 1-H), 4.52 (d, 1 H, 1'-H), 4.00-3.15 (m, 13 H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb, 2'-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 6'-Ha, 6'-Hb), 1.70 (m, 2 H, 2-Ha, 2-Hb).

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 103.4 (C-1'), 93.1 (C-1), 82.2-68.3 (C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-2', C-3', C-4', C-5'), 62.6-60.8 (C-8, C-6'), 34.1 (C-2).

### **113 $\alpha$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.26 (d, 1 H, 1-H), 1.80 (m, 1 H, 2-Ha), 1.68 (m, 1 H, 2-Hb).

### **113 $\beta$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 4.69 (m, 1 H, 1-H), 1.82 (m, 1 H, 2-Ha), 1.50 (m, 1 H, 2-Hb).

### **112' $\alpha$ /112' $\beta$ /113' $\alpha$ /113' $\beta$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.55 (m, 1 H, 1-H), 4.44 (m, 1 H, 1'-H), 4.35-3.15 (m, 13 H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb, 2'-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 6'-Ha, 6'-Hb), 2.19 (m, 1 H, 2-Ha), 1.92 (m, 1 H, 2-Hb).

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 103.4 (C-1'), 97.6 (C-1), 82.2-68.3 (C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-2', C-3', C-4', C-5'), 62.6-60.8 (C-8, C-6').

**112'  $\alpha$ /112'  $\beta$ /113'  $\alpha$ /113'  $\beta$**

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.55 (m, 1 H, 1-H), 4.44 (m, 1 H, 1'-H), 4.35-3.15 (m, 13 H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb, 2'-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 6'-Ha, 6'-Hb), 2.19 (m, 1 H, 2-Ha), 1.92 (m, 1 H, 2-Hb).

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 103.4 (C-1'), 97.5 (C-1), 82.2-68.3 (C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-2', C-3', C-4', C-5'), 62.6-60.8 (C-8, C-6').

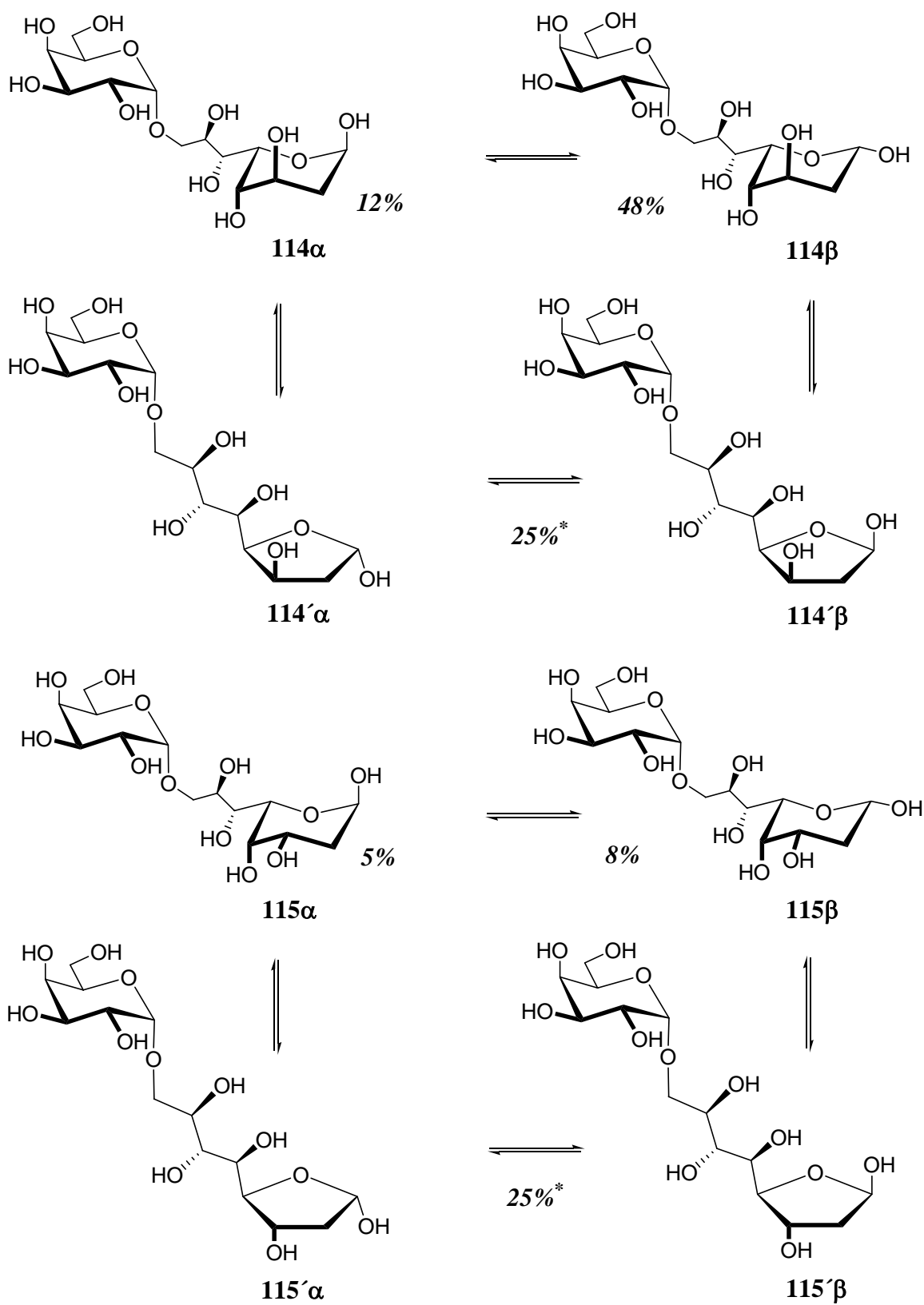
**112'  $\alpha$ /112'  $\beta$ /113'  $\alpha$ /113'  $\beta$**

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.38 (m, 1 H, 1-H).

**112'  $\alpha$ /112'  $\beta$ /113'  $\alpha$ /113'  $\beta$**

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.38 (m, 1 H, 1-H).

$\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$  386.35

**8-O- $\alpha$ -D-Galactosyl-2-desoxy-D-glycero-D-ido-octose (114)****8-O- $\alpha$ -D-Galactosyl-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octose (115)**

Ozonolyse von **17/18** nach **AAV 3** und anschließende reduktive Aufarbeitung

Ansatz: 590 mg (1.54 mmol) Diastereomerengemisch **17/18**

Ausbeute: 595 mg (1 mmol, quant.) Produktgemisch **114 $\alpha$ /114 $\beta$ /115 $\alpha$ /115 $\beta$**   
**114' $\alpha$ /114' $\beta$ /115' $\alpha$ /115' $\beta$**  als farbloser Sirup.

$R_f = 0.65$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

### **114 $\alpha$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.33 (dd, 1 H, 1-H), 4.98 (dd, 1 H, 1'-H), 4.38 (m, 1 H, 5-H), 4.02-3.95 (m, 4 H, 6-H, 7-H, 4'-H, 5'-H), 3.96 (m, 1 H, 3-H), 3.89 (m, 2 H, 3'-H, 8-Ha), 3.82 (m, 2 H, 4-H, 2'-H), 3.74 (d, 32 H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.65 (dd, 1 H, 8-Hb), 2.17 (dm, 1 H, 2-Ha), 1.76 (dm, 1 H, 2-Hb).

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 98.8 (C-1'), 92.0 (C-1), 73.0 (C-7), 72.3 (C-6), 71.4 (C-5'), 70.2 (C-4), 70.0 (C-3'), 69.7 (C-4'), 69.0 (C-2'), 68.6 (C-8), 67.6 (C-3), 65.5 (C-5), 61.6 (C-6'), 31.3 (C-2).

### **114 $\beta$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.08 (dd, 1 H, 1-H), 4.98 (dd, 1 H, 1'-H), 4.05 (ddd, 1 H, 3-H), 4.02-3.95 (m, 4 H, 6-H, 7-H, 4'-H, 5'-H), 3.92 (m, 1 H, 5-H), 3.89 (m, 2 H, 3'-H, 8-Ha), 3.83 (m, 1 H, 2'-H), 3.74 (d, 32 H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.68 (dd, 1 H, 4-H), 3.65 (dd, 1 H, 8-Hb), 1.87 (dd, 2 H, 2-Ha, 2-Hb);  $J_{1ax,2} = 6.2$  Hz,  $J_{1eq,2} = 3.1$  Hz,  $J_{3,4} = 3.2$  Hz,  $J_{7,8b} = 3.2$  Hz,  $J_{8a,8b} = 10.5$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 98.8 (C-1'), 92.8 (C-1), 73.0 (C-7), 72.3 (C-6), 71.4 (C-5'), 70.0 (C-3'), 69.7 (C-4'), 69.6 (C-5), 69.0 (C-4, C-2'), 68.8 (C-3), 68.3 (C-8), 61.6 (C-6'), 34.3 (C-2).

### **115 $\alpha$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.43 (d, 1 H, 1-H), 4.98 (dd, 1 H, 1'-H), 4.08 (ddd, 1 H, 3-H), 4.02-3.95 (m, 5 H, 4-H, 6-H, 7-H, 4'-H, 5'-H), 3.89 (m, 2 H, 3'-H, 8-Ha), 3.83 (m, 1 H, 2'-H), 3.76 (m, 1 H, 5-H), 3.74 (d, 32 H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.65 (dd, 1 H, 8-Hb), 1.94 (dd, 1 H, 2-Ha), 1.83 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{1ax,2} = 3.5$  Hz,  $J_{7,8b} = 3.2$  Hz,  $J_{8a,8b} = 10.5$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 98.8 (C-1'), 92.0 (C-1), 32.2 (C-2).

### 115 $\beta$

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 4.97 (m, 1 H, 1'-H), 4.83 (dd, 1 H, 1-H), 2.00 (m, 1 H, 2-Ha), 1.69 (ddd, 1 H, 2-Hb);  $J_{1\text{ax},2}$  = 9.8 Hz,  $J_{1\text{eq},2}$  = 2.1 Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 98.8 (C-1'), 94.4 (C-1), 35.1 (C-2).

### 114' $\alpha$ /114' $\beta$ /115' $\alpha$ /115' $\beta$

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.71 (dd, 1 H, 1-H), 4.98 (dd, 1 H, 1'-H), 4.46 (m, 1 H, 3-H), 4.20 (dd, 1 H, 4-H), 4.12 (dd, 1 H, 5-H), 4.02-3.95 (m, 4 H, 6-H, 7-H, 4'-H, 5'-H), 3.89 (m, 2 H, 3'-H, 8-Ha), 3.83 (m, 1 H, 2'-H), 3.74 (d, 32 H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.65 (dd, 1 H, 8-Hb), 2.35 (ddd, 1 H, 2-Ha), 2.12 (ddd, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2\text{ax}}$  = 4.9 Hz,  $J_{1,2\text{eq}}$  = 1.2 Hz,  $J_{3,4}$  = 3.0 Hz,  $J_{4,5}$  = 8.4 Hz,  $J_{7,8\text{b}}$  = 3.2 Hz,  $J_{8\text{a},8\text{b}}$  = 10.5 Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 98.8 (C-1'), 98.8 (C-1), 82.5 (C-4), 73.0 (C-7), 72.3 (C-6), 71.5 (C-3), 71.4 (C-5'), 70.0 (C-3'), 69.7 (C-4'), 69.2 (C-5), 69.0 (C-2'), 68.5 (C-8), 61.6 (C-6'), 43.9 (C-2).

### 114' $\alpha$ /114' $\beta$ /115' $\alpha$ /115' $\beta$

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.56 (dd, 1 H, 1-H), 4.98 (dd, 1 H, 1'-H), 4.40 (m, 1 H, 3-H), 4.22 (m, 1 H, 5-H), 4.02-3.95 (m, 5 H, 4-H, 6-H, 7-H, 4'-H, 5'-H), 3.89 (m, 2 H, 3'-H, 8-Ha), 3.82 (m, 2 H, 4-H, 2'-H), 3.74 (d, 32 H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.65 (dd, 1 H, 8-Hb), 2.35 (dm, 1 H, 2-Ha), 2.02 (dm, 1 H, 2-Hb).

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 98.8 (C-1'), 96.4 (C-1), 73.0 (C-7), 72.3 (C-6), 71.4 (C-5'), 70.2 (C-4), 70.0 (C-3, C-3'), 69.9 (C-5), 69.8 (C-4), 69.7 (C-4'), 69.0 (C-2'), 68.6 (C-8), 61.6 (C-6'), 42.6 (C-2).

### 114' $\alpha$ /114' $\beta$ /115' $\alpha$ /115' $\beta$

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.61 (dd, 1 H, 1-H), 4.97 (dd, 1 H, 1'-H).

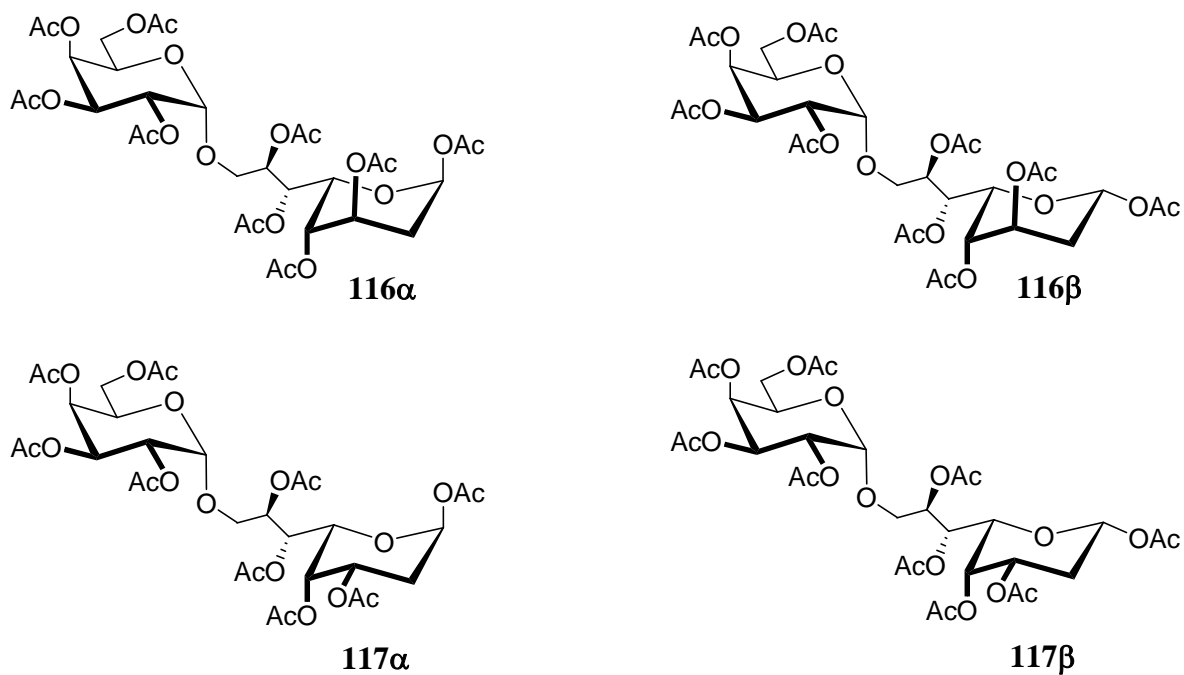
**114'α/114'β/115'α/115'β**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 5.56 (dd, 1 H, 1-H), 4.97 (dd, 1 H, 1'-H).

C<sub>14</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub>    386.35

**1,3,4,6,7-Penta-O-acetyl-8-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl-α-D-galactopyranosyl)-2-desoxy-D-glycero-D-ido-octo-1,5-pyranose (116)**

**1,3,4,6,7-Penta-O-acetyl-8-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl-α-D-galactopyranosyl)-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octo-1,5-pyranose (117)**



Acetylierung von **114α/114β/115α/115β** und **114'α/114'β/115'α/115'β** nach AAV 2

Ansatz:            842 mg (2.18 mmol) **114α/114β/115α/115β** und **114'α/114'β/115'α/115'β**

Ausbeute:        294 mg (0.39 mmol, 18 %) **116β** als gelber Sirup nach Säulenchromatographie  
 $R_f = 0.48$  (Toluol/AcOEt 1:1)

293 mg (0.39 mmol, 18 %) einer Mischfraktion aus **116 $\alpha$ /116 $\beta$ /116 $\alpha$ /117 $\beta$**  als gelber Sirup

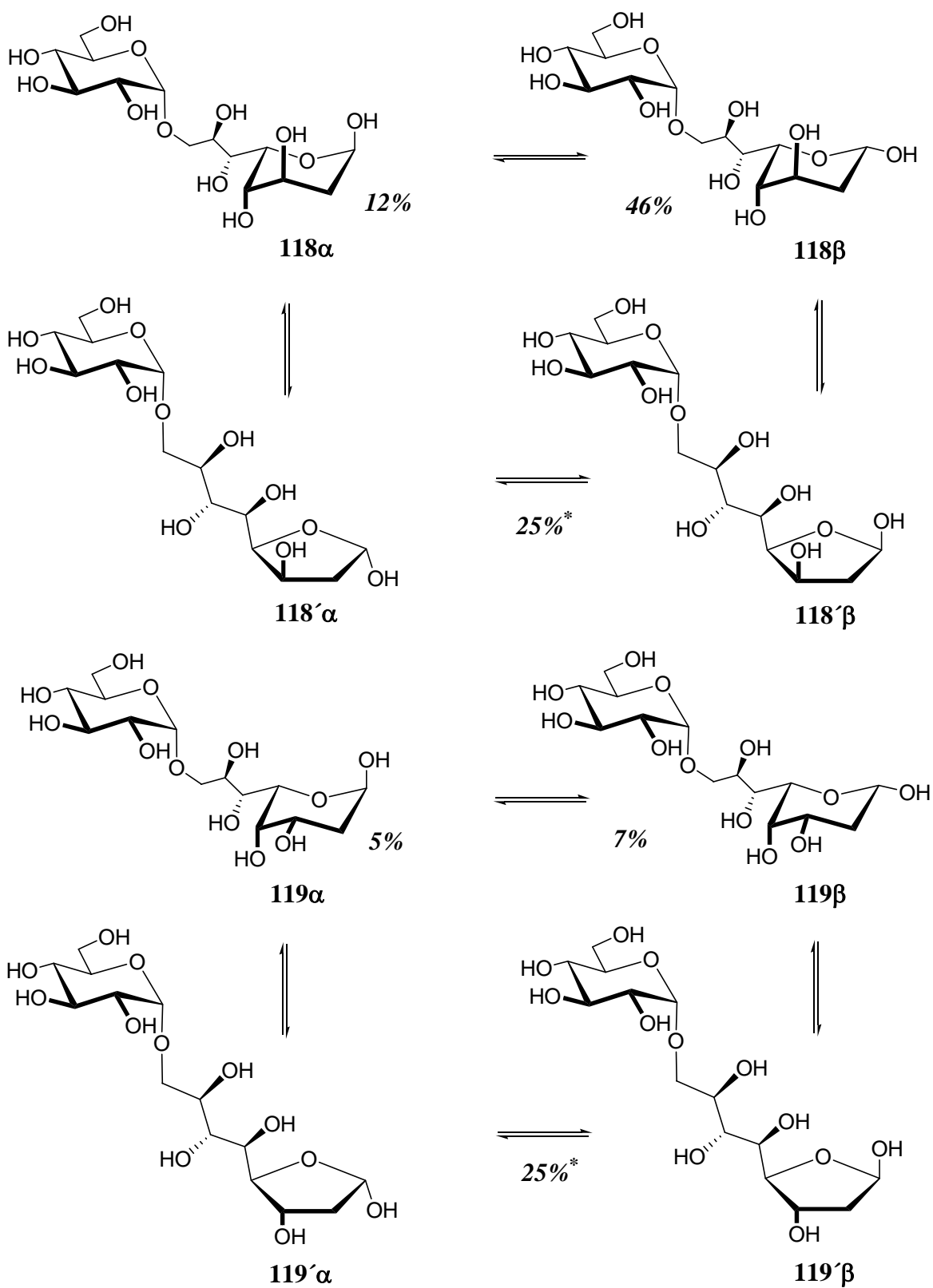
$R_f = 0.48 + 0.41$  (Toluol/AcOEt 1:1)

### 116 $\beta$

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 5.82$  (dd, 1 H, 1-H), 5.55 (d, 1 H, 1'-H), 5.37 (dd, 1 H, 3'-H), 5.12 (dd, 1 H, 3-H), 5.06 (dd, 1 H, 4'-H), 4.95 (dd, 1 H, 2'-H), 4.92 (ddd, 1 H, 7-H), 4.86 (dd, 1 H, 4-H), 4.50 (dd, 1 H, 8-Ha), 4.30 (dd, 1 H, 6'-Ha), 4.28 (m, 1 H, 5'-H), 4.21 (dd, 1 H, 8-Hb), 4.18 (dd, 2 H, 5-H, 6-H), 3.97 (dd, 1 H, 6'-Hb), 2.15-1.98 ( $\text{COOCH}_3$ ), 1.93 (m, 2 H, 2-Ha, 2-Hb);  $J_{1,2\text{ax}} = 8.3$  Hz,  $J_{1,2\text{eq}} = 4.3$  Hz,  $J_{2\text{ax},3} = 6.3$  Hz,  $J_{2\text{eq},3} = 3.1$  Hz,  $J_{3,4} = 3.3$  Hz,  $J_{4,5} = 1.0$  Hz,  $J_{5,6} = 8.5$  Hz,  $J_{6,7} = 1.4$  Hz,  $J_{7,8\text{a}} = 3.2$  Hz,  $J_{7,8\text{b}} = 8.1$  Hz,  $J_{8\text{a},8\text{b}} = 12.5$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.8$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.4$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.7$  Hz,  $J_{4',5'} = 9.8$  Hz,  $J_{5',6'\text{a}} = 2.3$  Hz,  $J_{5',6'\text{b}} = 4.3$  Hz,  $J_{6'\text{a},6'\text{b}} = 12.2$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 172.6$ -170.9 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 97.8 (C-1'), 92.6 (C-1), 78.1, 77.1 (C-5, C-6), 72.8 (C-7), 72.0 (C-3'), 71.6 (C-2'), 70.6 (C-4'), 69.5 (C-5'), 69.4 (C-3), 67.2 (C-4), 63.8 (C-6', C-8), 32.2 (C-2), 23.0-22.6 ( $\text{OCOCH}_3$ ).

$\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{O}_{21}$       764.68

**8-O- $\alpha$ -D-Glucosyl-2-desoxy-D-glycero-D-ido-octose (118)****8-O- $\alpha$ -D-Glucosyl-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octose (119)**

Ozonolyse von **21/22** nach **AAV 3** und anschließende reduktive Aufarbeitung



Ansatz: 380 mg (1 mmol) Diastereomergemisch **21/22**

Ausbeute: 390 mg (1 mmol, quant.) **118 $\alpha$ /118 $\beta$ /119 $\alpha$ /119 $\beta$**  und  
**118' $\alpha$ /118' $\beta$ /119' $\alpha$ /119' $\beta$**  als farbloser Sirup

$R_f = 0.63$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

### **118 $\alpha$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.06$  (m, 1 H, 1-H), 1.73 (m, 1 H, 2-Ha), 1.48 (dm, 1 H, 2-Hb).

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 98.8$  (C-1'), 91.9 (C-1), 31.2 (C-2).

### **118 $\beta$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 4.81$  (dd, 1 H, 1-H), 4.67 (dd, 1 H, 1'-H), 3.78 (ddd, 1 H, 3-H), 3.75-3.65 (m, 3 H, 5-H, 6-H, 7-H), 3.62 (m, 1 H, 8-Ha), 3.57 (m, 2 H, 5'-H, 6'-Ha), 3.55-3.43 (m, 2 H, 3'-H, 6'-Hb), 3.42 (m, 1 H, 4-H), 3.36 (dd, 1 H, 8-Hb), 3.29 (m, 1 H, 2'-H), 3.14 (m, 1 H, 4'-H), 1.59 (dd, 2 H, 2-Ha, 2-Hb);  $J_{1ax,2} = 6.2$  Hz,  $J_{1eq,2} = 3.1$  Hz,  $J_{3,4} = 3.2$  Hz,  $J_{4,5} = 1.1$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 98.6$  (C-1'), 92.7 (C-1), 73.5 (C-3'), 72.9 (C-7), 72.2, 72.2 (C-5, C-6, C-5'), 71.9 (C-2'), 70.0 (C-4'), 68.9, 68.8 (C-3, C-4), 68.2 (C-8), 60.9 (C-6'), 34.2 (C-2).

### **119 $\alpha$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.15$  (dd, 1 H, 1-H), 1.66 (dm, 1 H, 2-Ha), 1.56 (m, 1 H, 2-Hb).

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 98.6$  (C-1'), 91.9 (C-1), 32.1 (C-2).

### **119 $\beta$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 4.56$  (dd, 1 H, 1-H), 1.73 (m, 1 H, 2-Ha), 1.41 (m, 1 H, 2-Hb).

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 98.6$  (C-1'), 94.3 (C-1).

**118'α/118'β/119'α/119'β**

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 5.43$  (dd, 1 H, 1-H), 4.67 (dd, 1 H, 1'-H), 4.15 (m, 1 H, 3-H), 3.93 (dd, 1 H, 4-H), 3.84 (dd, 1 H, 5-H), 3.75-3.65 (m, 3 H, 5-H, 6-H, 7-H), 3.62 (m, 1 H, 8-Ha), 3.57 (m, 2 H, 5'-H, 6'-Ha), 3.55-3.43 (m, 2 H, 3'-H, 6'-Hb), 3.42 (m, 1 H, 4-H), 3.36 (dd, 1 H, 8-Hb), 2.08 (ddd, 1 H, 2-Ha), 1.84 (ddd, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2\text{ax}} = 4.9$  Hz,  $J_{1,2\text{eq}} = 1.2$  Hz,  $J_{3,4} = 3.0$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 98.6$  (C-1'), 97.7 (C-1), 82.5 (C-4), 73.5 (C-3'), 72.2 (C-5'), 71.9 (C-2'), 71.4 (C-3), 70.4, 70.2 (C-6, C-7), 70.0 (C-4'), 69.5 (C-5), 69.1 (C-8), 60.9 (C-6'), 43.8 (C-2).

**118'α/118'β/119'α/119'β**

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 5.24$  (dd, 1 H, 1-H), 2.08 (dm, 1 H, 2-Ha), 1.73 (dm, 1 H, 2-Hb).

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 98.6$  (C-1'), 98.0 (C-1), 41.9 (C-2).

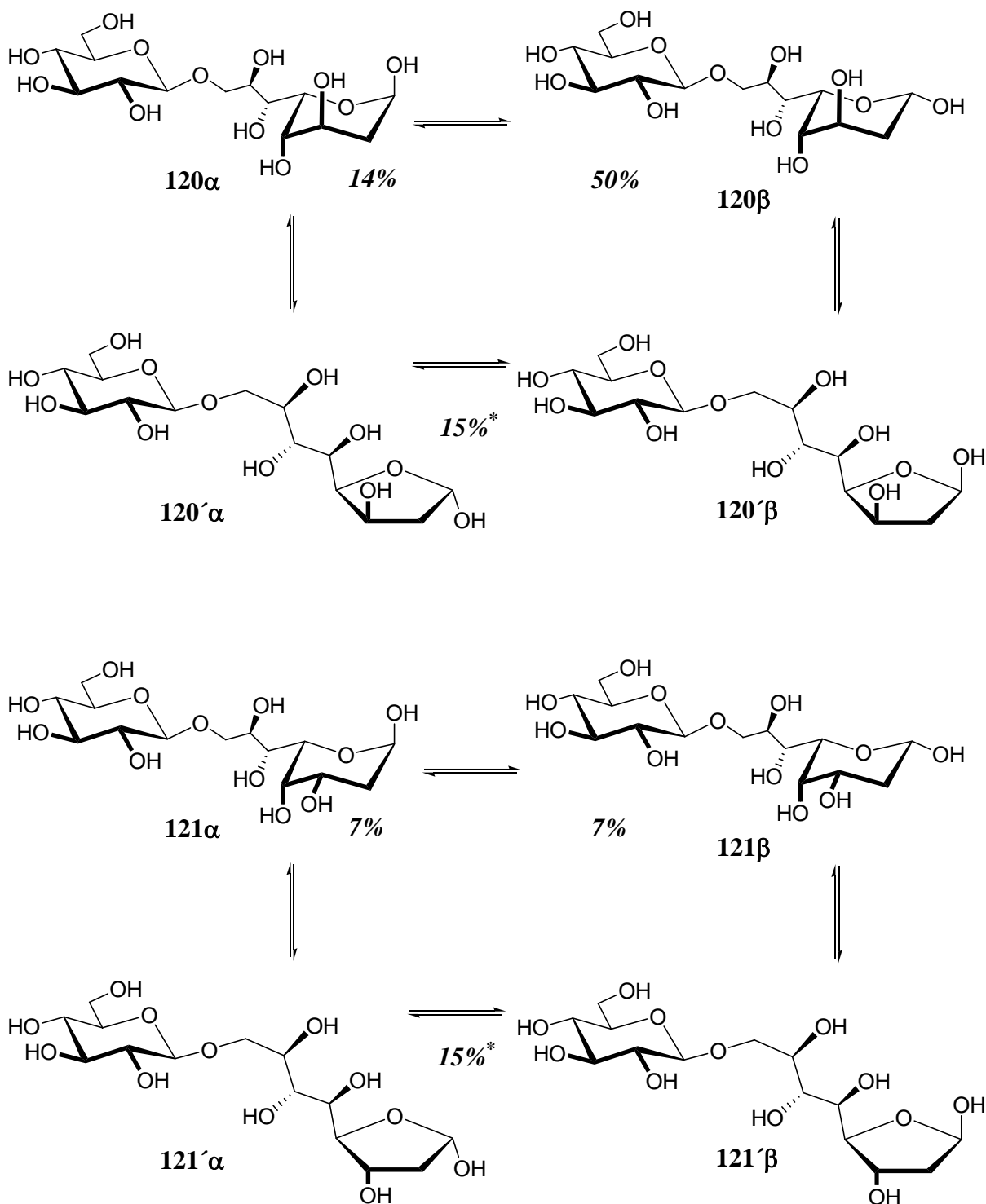
**118'α/118'β/119'α/119'β**

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 5.33$  (m, 1 H, 1-H).

**118'α/118'β/119'α/119'β**

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 5.28$  (m, 1 H, 1-H).

$\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$  386.35

**8-O- $\beta$ -D-Glucosyl-2-desoxy-D-glycero-D-ido-octose (120)****8-O- $\beta$ -D-Glucosyl-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octose (121)**

Ozonolyse von **27/28** nach **AAV 3** und anschließende reduktive Aufarbeitung

Ansatz: 380 mg (1 mmol) Diastereomerengemisch **27/28**

Ausbeute: 390 mg (1 mmol, quant.) **120 $\alpha$ /120 $\beta$ /121 $\alpha$ /121 $\beta$**  und **120' $\alpha$ /120 $\beta$ /121' $\alpha$ /121' $\beta$**   
als farbloser Sirup

$R_f = 0.64$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

### **120 $\alpha$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.27$  (d, 1 H, 1-H), 2.17 (m, 1 H, 2-Ha), 1.68 (m, 1 H, 2-Hb).

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 104.9$  (C-1'), 93.7 (C-1).

### **120 $\beta$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.06$  (dd, 1 H, 1-H), 4.33 (dd, 1 H, 1'-H), 4.10 (dd, 1 H, 8-Ha), 4.06 (dd, 1 H, 5-H), 3.92 (m, 2 H, 3-H, 7-H), 3.87 (m, 2 H, 6-H, 6'-Ha), 3.74 (dd, 1 H, 8-Hb), 3.68 (m, 1 H, 6'-Hb), 3.61 (d, 1 H, 4-H), 3.38 (dd, 1 H, 3'-H), 3.30 (m, 2 H, 4'-H, 5'-H), 3.29 (m, 1 H, 2'-H), 1.89 (ddd, 1 H, 2-Ha) 1.75 (dm, 1 H, 2-Hb);  $J_{1ax,2} = 9.9$  Hz,  $J_{1eq,2} = 2.2$  Hz,  $J_{3,4} = 3.2$  Hz,  $J_{4,5} = 1.3$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.8$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.0$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.0$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 104.9$  (C-1'), 93.8 (C-1'), 78.0, 77.9 (C-3', C-5'), 72.5 (C-2'), 74.9, (C-6), 72.4 (C-8), 72.2 (C-5), 71.6 (C-4'), 71.4 (C-4), 71.2 (C-7), 70.2 (C-3), 62.7 (C-6'), 36.1 (C-2).

### **121 $\alpha$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.36$  (d, 1 H, 1-H), 1.96 (m, 1 H, 2-Ha), 1.75 (m, 1 H, 2-Hb).

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 98.8$  (C-1'), 93.2 (C-1).

### **121 $\beta$**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 4.75$  (m, 1 H, 1-H), 1.96 (m, 1 H, 2-Ha), 1.75 (m, 1 H, 2-Hb).

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 98.8$  (C-1'), 91.1 (C-1).

**120'α/120β/121'α/121'β**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 5.65 (dd, 1 H, 1-H), 4.49 (dd, 1 H, 1'-H), 4.43 (m, 1 H, 3-H), 4.15 (m, 1 H, 4-H), 2.16 (m, 1 H, 2-Ha), 2.03 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2ax} = 5.5$  Hz,  $J_{1,2eq} = 4.5$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 104.9 (C-1'), 98.8 (C-1).

**120'α/120β/121'α/121'β**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 5.44 (m, 1 H, 1-H).

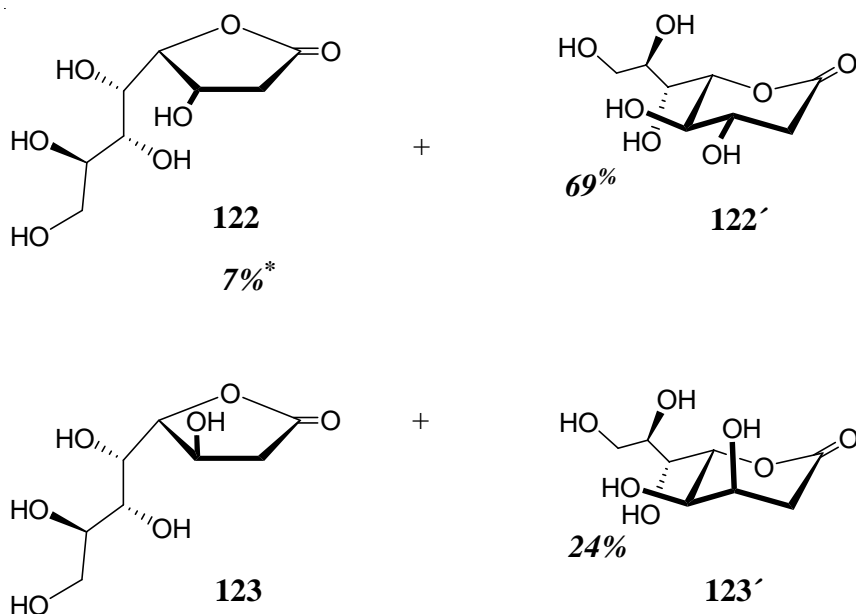
**120'α/120β/121'α/121'β**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 5.54 (m, 1 H, 1-H).

**120'α/120β/121'α/121'β**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 5.48 (m, 1 H, 1-H).

C<sub>14</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub>     386.35

**2-Desoxy-D-glycero-D-galacto-octonsäure-1,5-lacton (122)****2-Desoxy-D-glycero-D-galacto-octonsäure-1,6-lacton (122')****2-Desoxy-D-glycero-D-gulo-octonsäure-1,5-lacton (123)****2-Desoxy-D-glycero-D-gulo-octonsäure-1,6-lacton (123')**

57 mg (0.25 mmol) von **94/95** werden in 5 mL Wasser gelöst und mit 2 Äq. Brom versetzt. Man rührt die Lösung bei Raumtemperatur für 2 d. Anschließend wird vorsichtig mit  $\text{HCO}_3^-$ -Ionentauscher neutralisiert und im Vakuum eingengt. 30 mg (0.14 mmol, 54%) des Lactons als farbloser Feststoff werden erhalten.

$R_f = 0.61$  (Chloroform/Methanol/Wasser 10:10:1)

**122**

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 4.36$  (ddd, 1 H, 3-H), 3.91 (m, 1 H, 5-H), 3.88 (dd, 1 H, 8-Ha), 3.83 (m, 1 H, 6-H), 3.78 (m, 1 H, 7-H), 3.68 (dd, 1 H, 8-Hb), 3.57 (dd, 1 H, 4-H), 2.54 (ddd, 1 H, 2a), 2.74 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{2\text{eq},2\text{ax}} = 14.9$  Hz,  $J_{2\text{eq},3} = 5.4$  Hz,  $J_{2\text{ax},3} = 8.6$  Hz,  $J_{3,4} = 1.4$  Hz,  $J_{4,5} = 9.5$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 183.2$  (C-1), 74.4 (C-4), 73.9 (C-7), 72.3 (C-6), 71.5 (C-5), 70.7 (C-3), 66.2 (C-8), 44.5 (C-2).

## 123

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 4.62 (dd, 1 H, 4-H), 4.28 (m, 1 H, 3-H), 3.92-3.55 (m, 5 H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb), 2.55 (m, 1 H, 2a), 2.74 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{2\text{eq},2\text{ax}}$  = 15.4 Hz,  $J_{2\text{ax},3}$  = 9.5 Hz,  $J_{3,4}$  = 3.4 Hz,  $J_{4,5}$  = 9.8 Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 179.8 (C-1), 85.4 (C-4), 76.7-68.7 (C-3, C-5, C-6, C-7), 66.1 (C-8), 41.9 (C-2).

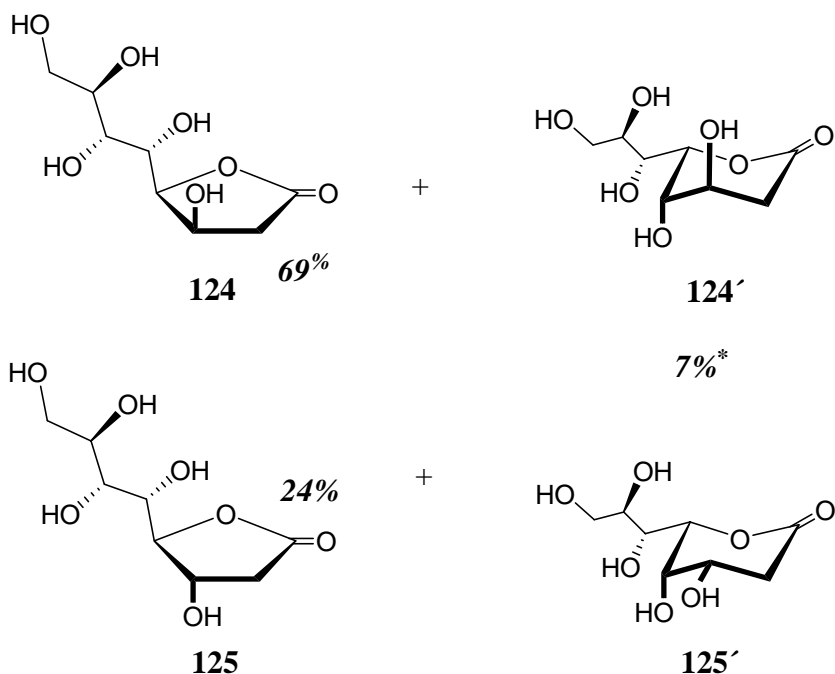
$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_7$       222.19

**2-Desoxy-D-glycero-D-ido-octonsäure-1,5-lacton (124)**

**2-Desoxy-D-glycero-D-ido-octonsäure-1,6-lacton (124')**

**2-Desoxy-D-glycero-D-gulo-octonsäure-1,5-lacton (125)**

**2-Desoxy-D-glycero-D-gulo-octonsäure-1,6-lacton (125')**



120 mg (0.54 mmol) **98/99** werden in 5 mL Wasser gelöst, mit 2.4 Äq. Brom versetzt und für 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Nach Filtration über Ionentauscher ( $\text{H}^+$ -Form,  $\text{HCO}_3^-$ -Form) und Einengen des Lösungsmittels werden 60 mg (0.27 mmol, 50%) eines farblosen Sirups erhalten.

$R_f = 0.42$  (Chloroform/Methanol 2:1)

## 124

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 4.73$  (dd, 1 H, 4-H), 4.68 (m, 1 H, 3-H), 4.31 (dd, 1 H, 5-H), 3.88 (dd, 1 H, 8-Ha), 3.82 (ddd, 1 H, 7-H), 3.76 (dd, 1 H, 6-H), 3.69 (dd, 1 H, 8-Hb), 3.12 (dd, 1 H, 2-Ha), 2.63 (d, 1 H, 2-Hb);  $J_{2\text{ax},3} = 5.3$  Hz,  $J_{2\text{ax},2\text{eq}} = 18.1$  Hz,  $J_{4,5} = 1.2$  Hz,  $J_{5,6} = 8.8$  Hz,  $J_{6,7} = 8.9$  Hz,  $J_{7,8\text{a}} = 2.8$  Hz,  $J_{7,8\text{b}} = 6.0$  Hz,  $J_{8\text{a},8\text{b}} = 11.8$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 180.4$  (C-1), 87.6 (C-4), 71.6 (C-7), 70.3 (C-6), 69.1 (C-5), 68.4 (C-3), 63.9 (C-8), 40.6 (C-2).

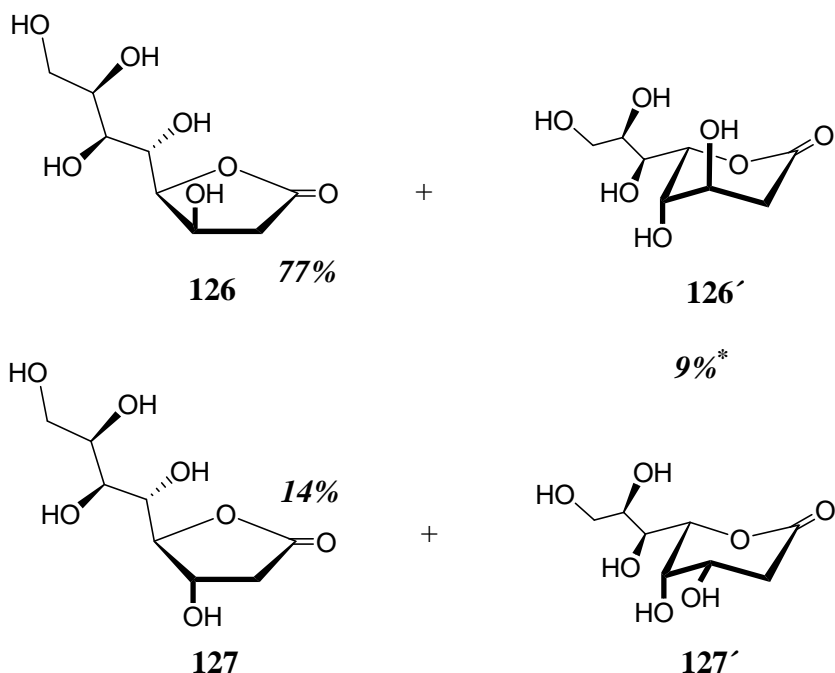
## 125

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 4.66$  (m, 1 H, 4-H), 4.59 (m, 1 H, 3-H), 4.02 (dd, 1 H, 5-H), 3.98-3.66 (m, 4 H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb), 3.09 (m, 1 H, 2-Ha), 2.61 (dd, 1 H, 2-Hb);  $J_{2\text{ax},3} = 3.5$  Hz,  $J_{2\text{ax},2\text{eq}} = 18.5$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 180.1$  (C-1), 90.2 (C-4), 71.8 (C-6), 71.7 (C-7), 70.6 (C-5), 69.6 (C-3), 63.6 (C-8), 38.3 (C-2).

$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{O}_7$       223.19



**2-Desoxy-D-glycero-L-glyco-octonsäure-1,5-lacton (126)****2-Desoxy-D-glycero-L-glyco-octonsäure-1,6-lacton (126')****2-Desoxy-D-glycero-L-manno-octonsäure-1,5-lacton (127)****2-Desoxy-D-glycero-L-manno-octonsäure-1,6-lacton (127')**

180 mg (0.82 mmol) von **102/103** werden in 10 mL Wasser gelöst und mit 1.2 Äq. Brom versetzt. Man rührt die Lösung bei Raumtemperatur für 2 d. Anschließend wird vorsichtig mit  $\text{HCO}_3^-$ -Ionentauscher neutralisiert und im Vakuum eingeeengt. 151 mg (0.68 mmol, 83%) des Lactons als farbloser Sirup werden erhalten.

$R_f = 0.61$  (Chloroform/Methanol/Wasser 10:10:1)

**126**

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 4.88$  (dd, 1 H, 4-H), 4.16 (dd, 1 H, 5-H), 3.99 (ddd, 1 H, 7-H), 3.70 (m, 3 H, 6-H, 8-Ha, 8-Hb), 3.03 (dd, 1 H, 2-Ha), 2.67 (dd, 1 H, 2-Hb);  $J_{2\text{eq},2\text{ax}} = 18.1$  Hz,  $J_{2\text{eq},3} = 6.8$  Hz,  $J_{2\text{ax},3} = 3.8$  Hz,  $J_{4,5} = 3.4$  Hz,  $J_{5,6} = 9.2$  Hz,  $J_{6,7} = 1.4$  Hz,  $J_{7,8a} = 6.4$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 183.1$  (C-1), 86.5 (C-4), 72.6, 72.5 (C-6, C-7), 71.0 (C-3), 70.9 (C-5), 65.9 (C-8), 40.7 (C-2).

## 127

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 4.62 (dd, 1 H, 4-H), 4.28 (m, 1 H, 3-H), 3.92-3.55 (m, 5 H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb), 2.55 (m, 1 H, 2a), 2.74 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{2\text{eq},2\text{ax}} = 15.4$  Hz,  $J_{2\text{ax},3} = 9.5$  Hz,  $J_{3,4} = 3.4$  Hz,  $J_{4,5} = 9.8$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 179.8 (C-1), 85.4 (C-4), 76.7-68.7 (C-3, C-5, C-6, C-7), 66.1 (C-8), 41.9 (C-2).

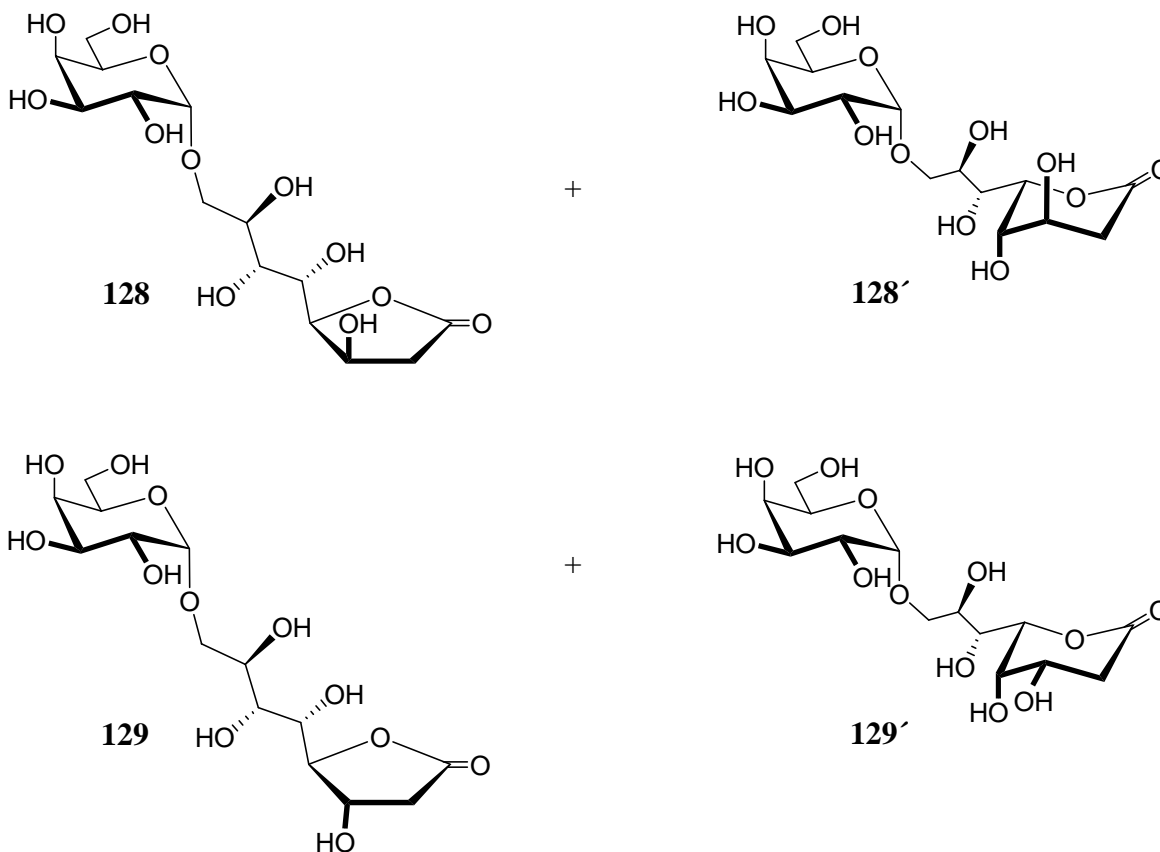
$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_7$       222.1

**8-*O*- $\alpha$ -D-Galactopyranosid-2-desoxy-D-*glycero*-D-*ido*-octonsäure-1,5-lacton (128)**

**8-*O*- $\alpha$ -D-Galactopyranosid-2-desoxy-D-*glycero*-D-*ido*-octonsäure-1,6-lacton (128')**

**8-*O*- $\alpha$ -D-Galactopyranosid-2-desoxy-D-*glycero*-D-*gulo*-octosäure-1,5-lacton (129)**

**8-*O*- $\alpha$ -D-Galactopyranosid-2-desoxy-D-*glycero*-D-*gulo*-octosäure-1,6-lacton (129')**



360 mg (0.93 mmol) von **114/115** werden in 15 mL Wasser gelöst und mit 1.2 Äq. Brom versetzt. Man rührt die Lösung bei Raumtemperatur für 2 d. Anschließend wird vorsichtig mit  $\text{HCO}_3^-$ -Ionentauscher neutralisiert und im Vakuum eingengt. 322 mg (0.84 mmol, 90%) des Lactons als gelber Schaum werden erhalten.

$R_f = 0.46$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  10:10:1)

## 128

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 5.0$  (m, 1 H, 1'-H), 4.73 (d, 1 H, 4-H), 4.69 (m, 1 H, 3-H), 4.33 (dd, 1 H, 5-H), 4.05-3.65 (m, 10 H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb, 2'-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.12 (m, 1 H, 2-Ha), 2.67 (m, 1 H, 2-Hb).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 182.3$  (C-1), 101.3 (C-1'), 89.4 (C-4), 73.8-71.3 (C-4, C-6, C-7, C-2', C-3', C-4', C-5'), 71.0 (C-5), 70.3 (C-3), 65.8 (C-8), 64.0 (C-6'), 42.5 (C-2).

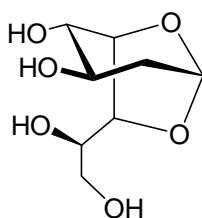
## 129

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 4.99$  (m, 1 H, 1'-H), 4.66 (m, 1 H, 4-H), 4.59 (m, 1 H, 3-H), 4.34 (dd, 1 H, 5-H), 4.05-3.65 (m, 10 H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb, 2'-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.00 (m, 1 H, 2-Ha), 2.61 (m, 1 H, 2-Hb).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 182.0$  (C-1), 101.0 (C-1'), 92.1 (C-4), 73.8-71.3 (C-4, C-6, C-7, C-2', C-3', C-4', C-5'), 70.9 (C-5), 70.3 (C-3), 65.8 (C-8), 64.0 (C-6'), 40.2 (C-2).

$\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$  384.33

## 1,6-Anhydro-2-desoxy- $\beta$ -D-erythro-L-gulo-octopyranosid (130)



472 mg (2.1 mmol) **98/99** werden in 8 mL Wasser gelöst, mit 645 mg (4.2 mmol) 3,5-Dimethoxy-phenol und 1.56 g Montmorillonit K-10 versetzt und 48 h bei 70°C erhitzt.

Anstatt des erwarteten Glycosids werden nach chromatographischer Aufreinigung an Kieselgel (Chloroform/Methanol 5:1) 377 mg (1.9 mmol, 88 %) eines leicht mit 3,5-Dimethoxy-phenol verunreinigten Anhydrids **130** erhalten.

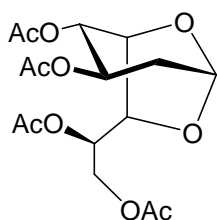
$R_f = 0.68$  (Chloroform/Methanol/Wasser 10:10:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 5.63$  (dd, 1 H, 1-H), 4.44 (d, 1 H, 5-H), 4.10 (ddd, 1 H, 7-H), 4.84 (ddd, 1 H, 3-H), 3.75 (dd, 1 H, 4-H), 3.72 (m, 1 H, 8-Ha), 3.60-3.55 (m, 2 H, 6-H, 8-Hb), 2.55 (ddd, 1 H, 2-Ha), 1.62 (ddd, 1 H, 3-H2);  $J_{1,2a} = 1.4$  Hz,  $J_{1,2b} = 2.1$  Hz,  $J_{2a,3} = 6.7$  Hz,  $J_{2b,3} = 10.3$  Hz,  $J_{2a,2b} = 13.4$  Hz,  $J_{4,5} = 4.1$  Hz,  $J_{5,6} = 8.7$  Hz,  $J_{6,7} = 3.5$  Hz,  $J_{7,8a} = 3.5$  Hz,  $J_{7,8b} = 7.0$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 104.2$  (C-1), 79.2 (C-5), 78.1 (C-7), 74.5, 74.4 (C-4, C-6), 70.7 (C-3), 65.0 (C-8), 41.6 (C-2).

$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_6$  206.19

### 1,6-Anhydro-3,4,7,8-tetra-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-erythro-L-gulo-octopyranosid (**131**)



Ansatz: 340 mg (1.65 mmol) **130** werden nach **AAV 2** acetyliert

Ausbeute: 74 mg (0.20 mmol, 12 %) **131** als farbloser Sirup

$R_f = 0.31$  (AcOEt/Cyclohexan 2:3)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 5.57$  (dd, 1 H, 1-H), 5.23 (ddd, 1 H, 3-H), 5.02 (dd, 1 H, 4-H), 4.88 (ddd, 1 H, 7-H), 4.46 (dd, 1 H, 8-Ha), 4.43 (d, 1 H, 5-H), 4.28 (d, 1 H, 6-H), 4.10

(dd, 1 H, 8-Hb), 2.40 (ddd, 1 H, 2-Ha), 2.10, 2.09, 2.05, 2.04 (OCOH<sub>3</sub>), 1.68 (ddd, 1 H, 3-H2);  $J_{1,2a} = 1.4$  Hz,  $J_{1,2b} = 2.0$  Hz,  $J_{2a,3} = 7.1$  Hz,  $J_{2b,3} = 10.0$  Hz,  $J_{2a,2b} = 13.3$  Hz,  $J_{3,4} = 9.2$  Hz,  $J_{4,5} = 4.3$  Hz,  $J_{5,6} = 7.2$  Hz,  $J_{6,7} = 3.2$  Hz,  $J_{7,8a} = 2.9$  Hz,  $J_{7,8b} = 5.2$  Hz,  $J_{8a,8b} = 12.3$  Hz.

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 169.6, 169.2, 168.9, 168.8$  (OCOCH<sub>3</sub>), 100.3 (C-1), 73.2 (C-5), 72.9 (C-6), 70.0 (C-7), 69.8 (C-4), 66.8 (C-3), 60.9 (C-8), 36.0 (C-2), 19.9, 19.8 (OCOCH<sub>3</sub>).

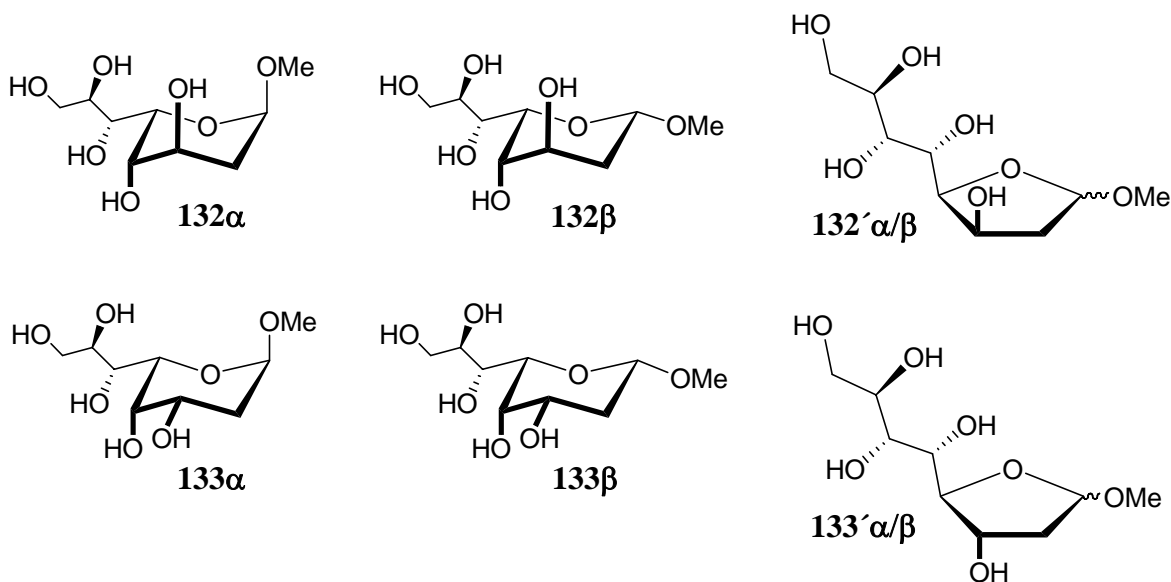
C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>10</sub> 374.34

**Methyl-2-desoxy-D-glycero-D-ido-octo-1,5-pyranosid (132)**

**Methyl-2-desoxy-D-glycero-D-ido-octo-1,4-furanosid (132')**

**Methyl-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octo-1,5-pyranosid (133)**

**Methyl-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octo-1,4-furanosid (133')**



136 mg (0.61 mmol) **98/99** werden in 5 mL Methanol gelöst, mit 57 mg (0.73 mmol) AcCl versetzt und für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Auf der DC-Platte wird die Bildung von drei Flecken beobachtet. Nach Entfernen des Lösungsmittels und anschließender versuchter chromatographischer Aufreinigung an Kieselgel (Chloroform/Methanol 2:1) werden als polarste Komponenten 16 mg (0.07 mmol, 11%) **132 $\alpha$ /130** ca. 4:1 erhalten. Als zweite

Fraktion werden 16 mg (0.07 mmol, 11%) **132 $\alpha$ /132 $\beta$ /130** 42:26:32: isoliert. 75 mg (0.32 mmol, 52%) an **132 $\beta$ /132' $\alpha$ / $\beta$ /133' $\alpha$ / $\beta$**  werden als farbloser Sirup als 3 Fraktion erhalten.

### **132 $\alpha$**

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, MeOD):**  $\delta$  = 4.84 (dd, 1 H, 1-H), 4.28 (dd, 1 H, 5-H), 3.82-3.72 (m, 4 H, 3-H, 6-H, 7-H, 8-Ha), 3.71 (m, 1 H, 4-H), 3.65 (m, 1 H, 8-Hb), 2.20 (ddd, 1 H, 2-Ha), 1.72 (ddd, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2\text{ax}} = 4.0$  Hz,  $J_{1,2\text{eq}} = 1.5$  Hz,  $J_{2\text{ax},2\text{eq}} = 13.4$  Hz,  $J_{2\text{ax},3} = 4.0$  Hz,  $J_{2\text{eq},3} = 1.5$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, MeOD):**  $\delta$  = 100.2 (C-1), 75.6 (C-6), 72.9 (C-4), 72.0 (C-4), 68.9 (C-3), 64.7 (C-3, C-8), 55.7 (OMe), 31.6 (C-2).

$R_f = 0.46$  (Chloroform/Methanol 2:1)

### **132 $\beta$**

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, MeOD):**  $\delta$  = 5.44 (dd, 1 H, 1-H), 4.36 (d, 1 H, 5-H), 3.82-3.58 (m, 5 H, 3-H, 4-H, 6-H, 7-H, 8-Ha), 3.65 (m, 1 H, 8-Hb), 2.11 (ddd, 1 H, 2-Ha), 1.49 (ddd, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2\text{ax}} = 2.0$  Hz,  $J_{1,2\text{eq}} = 1.3$  Hz,  $J_{2\text{ax},2\text{eq}} = 13.3$  Hz,  $J_{2\text{ax},3} = 10.2$  Hz,  $J_{2\text{eq},3} = 6.7$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, MeOD):**  $\delta$  = 102.8 (C-1), 78.3 (C-5), 75.6 (C-6), 74.0 (C-4), 72.5 (C-7), 68.9 (C-3), 64.6 (C-8), 55.6 (OMe), 41.2 (C-2).

$R_f = 0.36$  (Chloroform/Methanol 2:1)

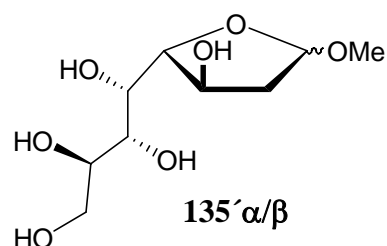
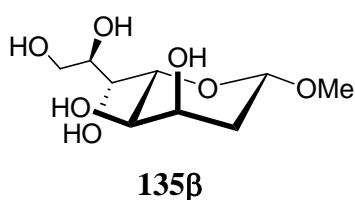
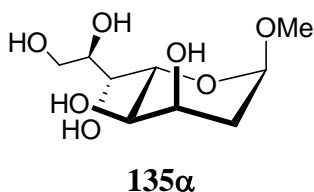
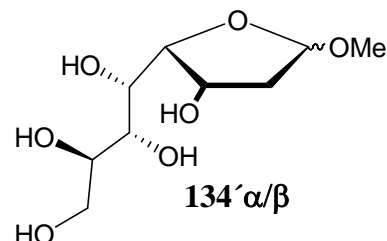
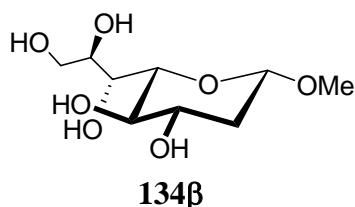
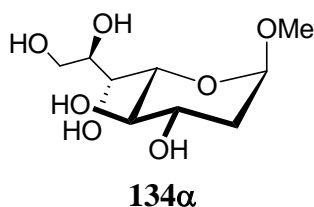
$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}_7$       238.24

**Methyl-2-desoxy-D-glycero-D-galacto-octo-1,5-pyranosid (134)**

**Methyl-2-desoxy-D-glycero-D-galacto-octo-1,4-furanosid (134')**

**Methyl-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octo-1,5-pyranosid (135)**

**Methyl-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octo-1,4-furanosid (135')**



72 mg (0.33 mmol) **94/95** werden in 5 mL Methanol gelöst, mit 57 mg (0.73 mmol) AcCl versetzt und für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Auf der DC-Platte Es wird die Bildung von zwei Produkten beobachten. Nach Entfernen des Lösungsmittels und anschließender versuchter chromatographischer Aufreinigung an Kieselgel (Chloroform/Methanol 2:1) werden 65 mg (0.27 mmol, 82%) **134α/134β/134'α/134'β** und **135α/135β/135'α/135'β** als gelber Sirup erhalten.

$R_f = 0.30$  (Chloroform/Methanol 2:1)

### **134α**

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, MeOD):**  $\delta = 4.79$  (d, 1 H, 1-H), 4.13 (m, 1 H, 5-H), 3.86-3.63 (m, 4 H, 3-H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb), 3.45 (m, 1 H, 4-H), 3.35 (s, 3 H, OMe), 2.08 (m, 1 H, 2-Ha), 1.46 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2\text{eq}} = 1.9$  Hz,  $J_{1,2\text{ax}} = 3.6$  Hz,  $J_{2\text{eq},2\text{ax}} = 12.9$  Hz,  $J_{2\text{eq},3} = 5.3$  Hz,  $J_{2\text{ax},3} = 11.7$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, MeOD):**  $\delta = 100.0$  (C-1), 73.0-68.9 (C-3, C-4, C-5, C-6, C-7), 65.6 (C-8), 55.2 (OMe), 38.3 (C-2).

**134 $\beta$** 

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz, MeOD):**  $\delta$  = 4.48 (dd, 1 H, 1-H), 3.86-3.63 (m, 4 H, 4-H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb), 3.59 (m, 1 H, 3-H), 3.46 (m, 1 H, 5-H), 3.33 (s, 3 H, OMe), 2.08 (m, 1 H, 2-Ha), 1.46 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2\text{eq}} = 1.9$  Hz,  $J_{1,2\text{ax}} = 9.7$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz, MeOD):**  $\delta$  = 102.4 (C-1), 75.2 (C-4), 73.0-68.9 (C-3, C-5, C-6, C-7), 65.2 (C-8), 56.8 (OMe), 40.3 (C-2).

**134' $\alpha$ /134' $\beta$** 

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz, MeOD):**  $\delta$  = 5.14 (dd, 1 H, 1-H), 4.44 (ddd, 1 H, 3-H), 4.15 (m, 1 H, 5-H), 3.97 (m, 1 H, 4-H), 3.86-3.63 (m, 4 H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb), 3.33 (s, 3 H, OMe), 2.17 (m, 1 H, 2-Ha), 2.08 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2\text{eq}} = 3.8$  Hz,  $J_{1,2\text{ax}} = 5.7$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz, MeOD):**  $\delta$  = 106.0 (C-1), 81.0 (C-4), 73.0-68.9 (C-3, C-5, C-6, C-7), 65.1 (C-8), 56.8 (OMe), 43.4 (C-2).

**134' $\alpha$ /134' $\beta$** 

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz, MeOD):**  $\delta$  = 5.08 (dd, 1 H, 1-H), 4.55 (ddd, 1 H, 3-H), 3.97 (m, 1 H, 4-H), 3.70 (m, 1 H, 5-H), 3.86-3.63 (m, 4 H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb), 3.31 (s, 3 H, OMe), 2.17 (m, 1 H, 2-Ha), 2.05 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2\text{eq}} = 4.3$  Hz,  $J_{1,2\text{ax}} = 5.4$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz, MeOD):**  $\delta$  = 107.0 (C-1), 87.0 (C-4), 73.0-68.9 (C-3, C-5, C-6, C-7), 65.1 (C-8), 55.6 (OMe), 43.5 (C-2).

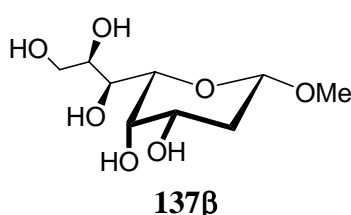
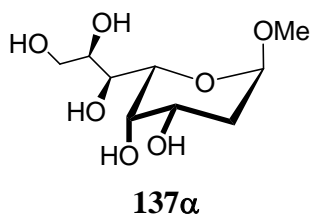
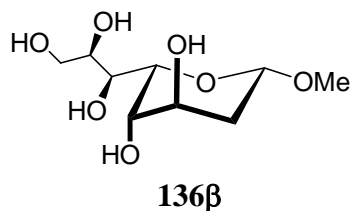
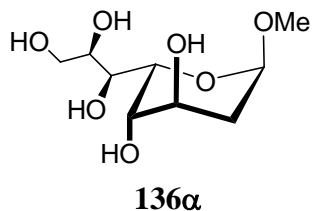
**135' $\alpha$ /135' $\beta$** 

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz, MeOD):**  $\delta$  = 5.01 (dd, 1 H, 1-H), 4.37 (ddd, 1 H, 3-H), 3.97 (m, 1 H, 4-H), 3.70 (m, 1 H, 5-H), 3.86-3.63 (m, 4 H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb), 3.31 (s, 3 H, OMe), 2.29 (ddd, 1 H, 2-Ha), 1.89 (ddd, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2\text{eq}} = 1.5$  Hz,  $J_{1,2\text{ax}} = 5.4$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz, MeOD):**  $\delta$  = 107.0 (C-1), 87.0 (C-4), 73.0-68.9 (C-3, C-5, C-6, C-7), 65.1 (C-8), 55.6 (OMe), 43.5 (C-2).

$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}_7$  238.24



**Methyl-2-desoxy-D-glycero-L-gluco-octo-1,5-pyranosid (136)****Methyl-2-desoxy-D-glycero-L-manno-octo-1,5-pyranosid (137)****Ansatz 1:**

88 mg (0.4 mmol) **102/103** werden in 5 mL Methanol gelöst, mit 50 mg (0.64 mmol) AcCl versetzt und für 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird mit  $\text{HCO}_3^-$ -Ionentauscher neutralisiert, der Ionentauscher abfiltriert und das MeOH abgezogen. 64 mg (0.27 mmol, 69%) des Glycosidgemischs **136 $\alpha$ /136 $\beta$**  und **137 $\alpha$ /137 $\beta$**  werden als farbloser Feststoff erhalten.

**Ansatz 2:**

88 mg (0.4 mmol) **102/103** werden in 5 mL Methanol gelöst, mit 80 mg  $\text{H}^+$ -Ionentauscher versetzt und für 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Ionentauscher wird abfiltriert und die methanolische Lösung eingeengt. 70 mg (0.29 mmol, 75%) des Glycosidgemischs **136 $\alpha$ /136 $\beta$**  und **137 $\alpha$ /137 $\beta$**  werden als farbloser Feststoff erhalten.

$R_f = 0.32$  (Chloroform/Methanol 2:1)

**136 $\alpha$** 

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 4.84$  (d, 1 H, 1-H), 4.15 (m, 1 H, 6-H), 3.97 (m, 1 H, 3-H), 3.92 (m, 1 H, 7 H), 3.85 (m, 1 H, 4-H), 3.77 (d, 1 H, 4-H), 3.71 (m, 3 H, 5-H, 8-Ha, 8-Hb), 3.38 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.16 (ddd, 1 H, 2-Ha), 1.80 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2\text{ax}} = 4.5$  Hz,  $J_{2\text{ax},2\text{eq}} = 15.5$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 98.6 (C-1), 70.3 (C-5), 68.7 (C-7), 68.2 (C-3, C-4), 64.6 (C-6), 63.6 (C-8), 55.3 (OMe), 30.3 (C-2).

### 136 $\beta$

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 4.78 (dd, 1 H, 1-H), 4.14 (m, 1 H, 3-H), 3.95 (m, 1 H, 7-H), 3.92 (dd, 1 H, 5 H), 3.83 (dd, 1 H, 6-H), 3.77 (d, 1 H, 4-H), 3.71 (m, 2 H, 8-Ha, 8-Hb), 3.57 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ), 1.84 (m, 2 H, 2-Ha, 2-Hb);  $J_{1,2\text{eq}} = 2.9$  Hz,  $J_{1,2\text{ax}} = 9.5$  Hz,  $J_{2\text{ax},2\text{eq}} = 15.5$  Hz,  $J_{3,4} = 3.4$  Hz,  $J_{4,5} = 1.2$  Hz,  $J_{5,6} = 9.5$  Hz,  $J_{6,7} = 1.5$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 100.1 (C-1), 72.0 (C-5), 70.4 (C-7), 68.9 (C-3), 68.7 (C-4), 66.9 (C-6), 63.5 (C-8), 56.6 (OMe), 33.0 (C-2).

### 137 $\alpha$

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 4.90 (d, 1 H, 1-H), 1.91 (dm, 1 H, 2-Ha), 1.81 (m, 1 H, 2-Hb);

### 137 $\beta$

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.06 (dd, 1 H, 1-H), 1.91-1.81 (m, 2 H, 2-Ha, 2-Hb),

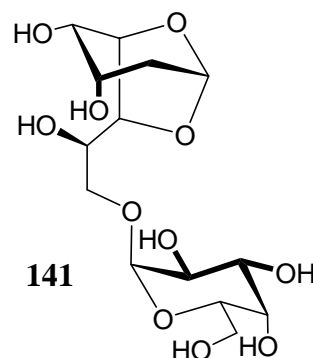
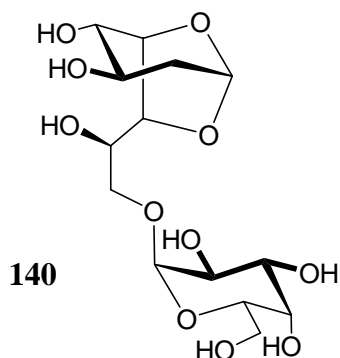
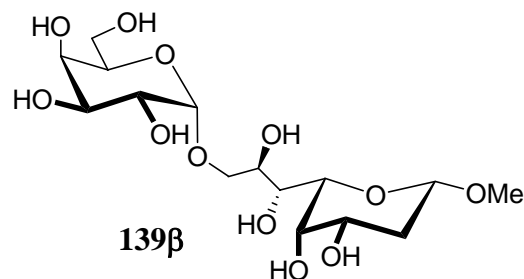
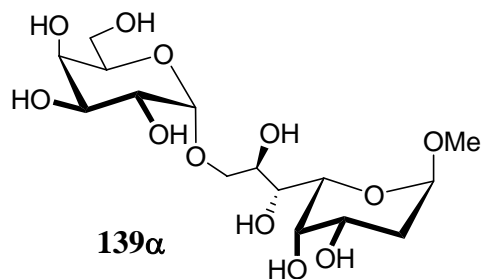
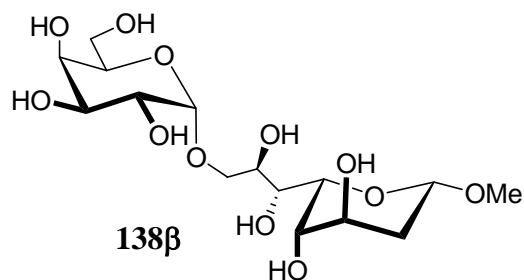
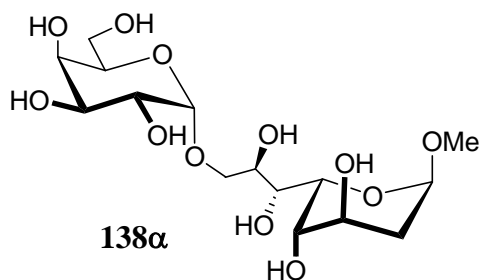
$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}_7$       238.24

**Methyl-8-*O*- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-2-desoxy-D-*glycero*-D-*ido*-octo-1,5-pyranosid (138)**

**Methyl-8-*O*- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-2-desoxy-D-*glycero*-D-*gulo*-octo-1,5-pyranosid (139)**

**8-*O*- $\alpha$ -D-Galactopyranosyl-1,6-anhydro-2-desoxy- $\beta$ -D-*erythro*-L-*gulo*-octopyranose (140)**

**8-*O*- $\alpha$ -D-Galactopyranosyl-1,6-anhydro-2-desoxy- $\beta$ -D-*erythro*-L-*ido*-octopyranose (141)**



Ansatz 1:

157 mg (0.46 mmol) **114/115** werden in 5 mL Methanol gelöst, mit 37 mg AcCl versetzt und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Einengen der Lösung werden 138 mg (0.35 mmol, 75%) des Glycosids **138 $\alpha$ /138 $\beta$ /139 $\alpha$ 139 $\beta$**  sowie **140/141** (53:47) als farblos nicht trennbarer Sirup erhalten.

## Ansatz 2:

152 mg (0.45 mmol) **114/115** werden in 5 mL Methanol gelöst, mit H<sup>+</sup>-Ionentauscher versetzt und 3 h bei 60°C erhitzt. Nach Einengen der Lösung werden 112 mg (0.28 mmol, 62%) des Glycosids **140/141** als farbloser Sirup erhalten.

$R_f = 0.34$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 10:10:1)

**138α**

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O): δ = 4.89 (m, 1 H, 1-H), 4.95 (d, 1 H, 1'-H), 3.34 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 2.18 (ddd, 1 H, 2-Ha), 1.77 (dm, 1 H, 2-Hb).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O): δ = 98.7 (C-1), 99.0 (C-1').

**138β**

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O): δ = 4.77 (dd, 1 H, 1-H), 4.95 (d, 1 H, 1'-H), 3.34 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 1.86 (m, 2 H, 2-Ha, 2-Hb).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O): δ = 100.3 (C-1), 99.0 (C-1').

**139α**

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O): δ = 4.97 (m, 1 H, 1-H), 4.95 (d, 1 H, 1'-H), 3.32 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 1.95 (m, 1 H, 2-Ha), 1.85 (m, 1 H, 2-Hb).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O): δ = 98.8 (C-1), 99.0 (C-1').

**139β**

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O): δ = 5.08 (m, 1 H, 1-H), 4.95 (d, 1 H, 1'-H), 3.32 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 2.12 (m, 1 H, 2-Ha), 1.68 (m, 1 H, 2-Hb).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O): δ = 98.8 (C-1), 99.0 (C-1').

**140**

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.62 (m, 1 H, 1-H), 4.95 (d, 1 H, 1'-H), 4.52 (d, 1 H, 3-H), 4.15 (dd, 1 H, 6-H), 3.99 (m, 2 H, 4'-H, 5'-H), 3.90 (dd, 1 H, 3'-H), 3.83 (m, 3 H, 3-H, 8-Ha, 2'-H), 3.73 (m, 4 H, 4-H, 7-H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.59 (dd, 1 H, 8-Hb), 3.34 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.24 (ddd, 1 H, 2-Ha), 1.60 (ddd, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2\text{eq}} = 1.0$  Hz,  $J_{1,2\text{ax}} = 10.3$  Hz,  $J_{2\text{ax},2\text{eq}} = 13.6$  Hz,  $J_{2\text{eq},3} = 6.6$  Hz,  $J_{4,5} = 4.2$  Hz,  $J_{5,6} = 7.0$  Hz.

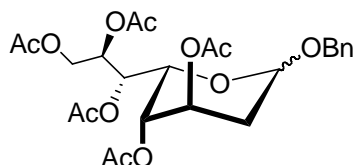
**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 101.1 (C-1), 99.0 (C-1'), 76.9 (C-5), 75.5 (C-6), 72.0 (C-4), 71.3 (C-5'), 70.5 (C-7), 69.9 (C-3'), 69.6 (C-4'), 68.9 (C-2'), 68.5 (C-8), 68.3 (C-3), 61.6 (C-6'), 56.6 (OMe), 39. (C-2).

#### 141

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.60 (m, 1 H, 1-H), 5.10 (d, 1 H, 1'-H), 4.47 (d, 1 H, 5-H).

$\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$  400.38

#### Benzyl-3,4,6,7,8-penta-*O*-acetyl-2-desoxy-D-glycero-D-ido-octo-1,5-pyranosid (143)



103 mg (0.22 mmol) **99 $\beta$**  werden unter Argon in 5 mL Dichlormethan gelöst, mit 48 mg (0.44 mmol, 2 Äq.) Benzylalkohol, 0.04 mL (0.28 mmol)  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  versetzt und anschließend bei Raumtemperatur für 5 h gerührt. Nach Abschluß der Reaktion wird mit 7 mL Dichlormethan verdünnt, mit ges.  $\text{NaHCO}_3$  (10 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und über Kieselgel aufgereinigt (Toluol/ $\text{AcOEt}$  2:1). 98 mg (0.19 mmol, 85 %) des Anomeren-gemisschs  $\alpha/\beta$  5:4 **143** als gelber Sirup werden erhalten

$R_f = 0.32$  (Toluol/ $\text{AcOEt}$  2:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 7.33-7.25 (m, 5 H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 5.57 (dd, 1 H, 6 $\beta$ -H), 5.49 (dd, 1 H, 6 $\alpha$ ), 5.08 (m, 2 H, 3 $\beta$ -H, 7 $\alpha$ -H, 7 $\beta$ -H), 4.98 (m, 2 H, 1 $\alpha$ -H, 4 $\alpha$ -H), 4.84 (m, 4 H, 3 $\alpha$ -H,

4 $\beta$ -H, CH<sub>2a</sub>), 4.56 (d, 1 H, CH<sub>2b</sub>), 4.45 (m, 1 H, 5 $\alpha$ -H), 4.40 (d, 1 H, CH<sub>2a</sub>), 4.40-4.10 (m, 4 H, 8 $\alpha$ -Ha, 8 $\alpha$ -Hb, 8 $\beta$ -Ha, 8 $\beta$ -Hb), 4.01 (d, 1 H, 5 $\beta$ -H), 2.20-1.95 (m, 4 H, 2 $\alpha$ -Ha, 2 $\alpha$ -Hb, 2 $\beta$ -Ha, 2 $\beta$ -Hb, OCOCH<sub>3</sub>);  $J_{5\alpha,6\alpha} = 3.6$  Hz,  $J_{5\beta,6\beta} = 3.7$  Hz,  $J_{6\alpha,7\alpha} = 7.3$  Hz,  $J_{6\beta,7\beta} = 7.2$  Hz

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 169.6, 169.5, 169.3, 169.2, 168.9, 168.8, 168.7$  (OCOCH<sub>3</sub>), 127.5-126.3 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 96.5 (C-1 $\beta$ ), 94.3 (C-1 $\alpha$ ), 70.2 (C-5 $\beta$ ), 69.9, 69.8 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 69.4 (CH<sub>2</sub>), 68.8, 69.4 (C-7 $\alpha$ , C-7 $\beta$ ), 68.0 (CH<sub>2</sub>), 66.0 (C-4 $\alpha$ ), 65.1 (C-4 $\beta$ ), 64.9 (C-3 $\alpha$ ), 63.6 (C-5 $\alpha$ ), 60.5, 60.3 (C-8 $\alpha$ , C-8 $\beta$ ), 30.6 (C-2 $\alpha$ , C-2 $\beta$ ), 21.5, 21.4, 21.3, 21.1, 21.0 (OCOCH<sub>3</sub>).

C<sub>25</sub>H<sub>32</sub>O<sub>12</sub> 524.19

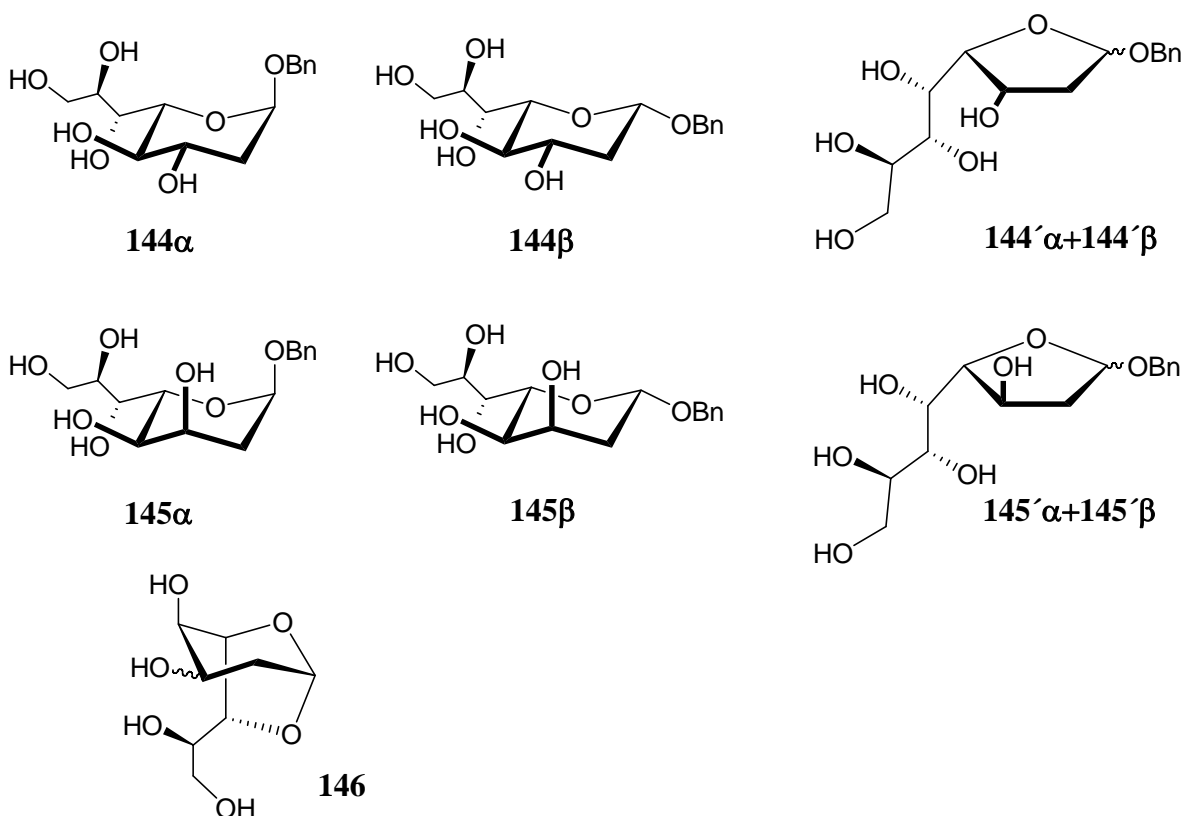
**Benzyl-2-desoxy-D-glycero-D-galacto-octo-1,5-pyranosid (144)**

**Benzyl-2-desoxy-D-glycero-D-galacto-octo-1,4-furanosid (144')**

**Benzyl-2-desoxy- D-glycero-D-galacto –octo-1,5-pyranosid (145)**

**Benzyl-2-desoxy- D-glycero-D-galacto -octo-1,4-furanosid (145')**

**1,6-Anhydro-2-desoxy- $\beta$ -D-erythro-L-glucolallo-octopyranose (146)**



#### Ansatz 1:

107 mg (0.48 mmol) **94 $\alpha$ /94 $\beta$ /95 $\alpha$ /95 $\beta$**  werden in 5 mL Benzylalkohol gelöst, mit 16 mg (0.07 mmol)  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  versetzt und 3 h bei 80°C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird  $\text{HCO}_3^-$  Ionentauscher neutralisiert und mit 20 mL  $\text{Et}_2\text{O}$  verdünnt. Nach weiterer Zugabe von 20 mL Wasser wird die organische Phase abdekantiert und die wässrige Phase unter vermindertem Druck eingeeengt. Lediglich 23 mg (15% Ausbeute) des Produktgemischs aus **144 $\alpha$ /144 $\beta$ /145 $\alpha$ /145 $\beta$**  (72%), **144' $\alpha$ /144' $\beta$ /145' $\alpha$ /145' $\beta$**  (13%) sowie **146** (15%) werden erhalten.

## Ansatz 2:

88 mg (0.4 mmol) **94 $\alpha$ /94 $\beta$ /95 $\alpha$ /95 $\beta$**  werden in 5 mL Benzylalkohol gelöst, mit H<sup>+</sup>-Ionentascher versetzt und 24 h bei 60°C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird filtriert und im Vakuum eingengt. Nach Chromatographie an Kieselgel (Chloroform/MeOH 2:1) werden 63 mg (50% Ausbeute) des Produktgemischs **144 $\alpha$ /144 $\beta$ /145 $\alpha$ /145 $\beta$**  (80%) und **146** (20%) erhalten.

**144 $\alpha$** 

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 7.48-7.40 (m, 5 H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.13 (d, 1 H, 1-H), 4.80 (d 1 H, CH<sub>2a</sub>), 4.50 (d, 1 H, CH<sub>2b</sub>), 3.95 (m, 2 H, 3-H, 5-H), 3.88 (dd, 1 H, 8-Ha), 3.85 (ddd, 1 H, 7-H), 3.72 (dd, 1 H, 8-Hb), 3.55 (dd, 1 H, 4-H), 2.14 (ddd, 1 H, 2a), 1.74 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2ax} = 3.2$  Hz,  $J_{1,2eq} = 0.9$  Hz,  $J_{2eq,2ax} = 14.5$  Hz,  $J_{2eq,3} = 5.2$  Hz,  $J_{2ax,3} = 11.9$  Hz,  $J_{3,4} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $J_{7,8a} = 2.7$  Hz,  $J_{7,8b} = 5.6$  Hz,  $J_{8a,8b} = 11.7$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 137.3, 129.2-128.8 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 96.8 (C-1), 70.9 (C-4, C-6), 70.5 (C-5), 69.1 (CH<sub>2</sub>), 69.0 (C-3), 68.0 (C-7), 64.0 (C-8), 37.0 (C-2).

**144 $\beta$** 

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 7.48-7.40 (m, 5 H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 4.87 (d 1 H, CH<sub>2a</sub>), 4.82 (m, 1 H, 1-H), 4.73 (d, 1 H, CH<sub>2b</sub>), 3.90-3.65 (m, 5 H, 3-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-Ha), 3.70 (m, 1 H, 8-Hb), 3.50 (m, 1 H, 4-H), 2.26 (ddd, 1 H, 2a), 1.53 (ddd, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2eq} = 1.9$  Hz,  $J_{1,2ax} = 9.8$  Hz,  $J_{2eq,2ax} = 12.0$  Hz,  $J_{2eq,3} = 5.0$  Hz,  $J_{2ax,3} = 9.8$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 137.3, 129.2-128.8 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 99.5 (C-1), 71.2 (CH<sub>2</sub>), 70.9-68.0 (C-3, C-4, C-5, C-6, C-7), 64.0 (C-8), 35.9 (C-2).

**145 $\alpha$** 

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 7.48-7.40 (m, 5 H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.03 (d, 1 H, 1-H), 2.20 (ddd, 1 H, 2a), 1.72 (m, 1 H, 2-Hb).

**145 $\beta$** 

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 7.48-7.40 (m, 5 H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.04 (m, 1 H, 1-H), 2.08 (m, 1 H, 2a), 1.75 (m, 1 H, 2-Hb).



**144'α/144'β**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 7.48-7.40 (m, 5 H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.33 (d, 1 H, 1-H), 5.31 (d, 1 H, 1-H).

**145'α/145'β**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 7.48-7.40 (m, 5 H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.50 (dd, 1 H, 1-H), 5.46 (dd, 1 H, 1-H).

**146**

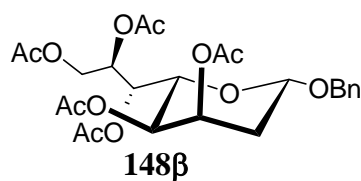
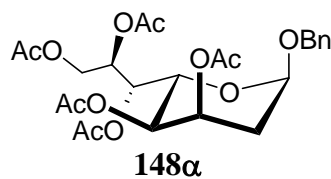
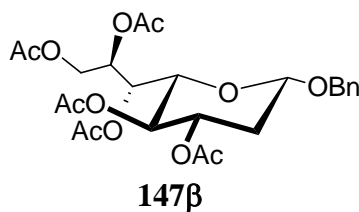
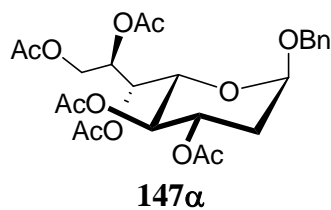
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 5.64 (s, 1 H, 1-H), 4.75 (m, 1 H, CH<sub>2a</sub>), 4.63 (d, 1 H, 5-H), 4.53 (d, 1 H, CH<sub>2b</sub>), 4.04 (ddd, 1 H, 3-H), 3.90-3.70 (m, 5 H, 4-H, 6-H, 7-H, 8-Ha, 8-Hb), 2.05 (ddd, 1 H, 2-Ha), 1.72 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2eq} = 2.2$  Hz,  $J_{2eq,3} = 6.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 137.3, 129.2-128.8 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 101.4 (C-1), 78.4 (C-5), 71.2 (CH<sub>2</sub>), 70.9-68.0 (C-4, C-6, C-7), 63.6 (C-3), 63.2 (C-8), 38.7 (C-2).

C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>7</sub>      314.33

**Benzyl-3,4,6,7,8-penta-*O*-acetyl-2-desoxy-D-glycero-D-galacto-octo-1,5-pyranosid (147)**

**Benzyl-3,4,6,7,8-penta-*O*-acetyl-2-desoxy-D-glycero-D-gulo-octo-1,5-pyranosid (148)**



85 mg (0.18 mmol) **96α/96β/97α/97β** werden unter Argon in 5 mL Dichlormethan gelöst, mit 40 mg (0.38 mmol, 2 äq.) Benzylalkohol, 0.03 mL (0.23 mmol) BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O versetzt und anschließend bei Raumtemperatur für 5 h gerührt. Nach Abschluß der Reaktion wird mit 7 mL Dichlormethan verdünnt, mit ges. NaHCO<sub>3</sub> (10 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und über Kieselgel aufgereinigt (Toluol/AcOEt 2:1). 80 mg (0.15 mmol, 83 %) des Gemischs aus **147α/147β/148α/148β** als gelber Sirup werden erhalten.

$R_f = 0.45$  (Toluol/AcOEt 2:1)

#### **147α**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7.36-7.25 (m, 5 H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.40-5.30 (m, 3 H, 3-H, 6-H, 7-H), 5.04 (d, 1 H, 1-H), 4.84 (dd, 1 H, 4-H), 4.66 (d, 1 H, CH<sub>2a</sub>), 4.44 (d, 1 H, CH<sub>2b</sub>), 4.43 (m, 1 H, 8-Ha), 4.18 (dd, 1 H, 5-H), 4.40 (d, 1 H, CH<sub>2a</sub>), 4.13 (m, 1 H, 8-Hb), 2.24 (m, 1 H, 2-Ha), 1.85 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2ax} = 3.3$  Hz,  $J_{3,4} = 10.0$  Hz,  $J_{4,5} = 10.0$  Hz,  $J_{5,6} = 1.6$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 171.1-170.2 (OCOCH<sub>3</sub>), 128.9-127.0 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 96.5 (C-1), 69.7 (C-6, C-7), 69.2 (CH<sub>2</sub>), 69.0 (C-4), 68.3 (C-5), 67.0 (C-3), 62.3 (C-8), 35.4 (C-2), 21.3-20.9 (OCOCH<sub>3</sub>).

#### **147β**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7.36-7.25 (m, 5 H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.40-5.30 (m, 2 H, 6-H, 7-H), 4.97 (m, 1 H, 3-H), 4.92 (dd, 1 H, 4-H), 4.84 (dd, 1 H, 4-H), 4.58 (dm 1 H, CH<sub>2a</sub>), 4.55 (d, 1 H, 1-H), 4.44 (d, 1 H, CH<sub>2b</sub>), 4.43 (m, 1 H, 8-Ha), 4.13 (m, 1 H, 8-Hb), 3.60 (dd, 1 H, 5-H), 2.31 (ddd, 1 H, 2-Ha), 1.82 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2eq} = 2.0$  Hz,  $J_{2eq,3} = 5.3$  Hz,  $J_{3,4} = 10.0$  Hz,  $J_{4,5} = 10.0$  Hz,  $J_{5,6} = 2.1$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 171.1-170.2 (OCOCH<sub>3</sub>), 128.9-127.0 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 99.1 (C-1), 72.0 (C-5), 71.2 (C-3), 71.1 (CH<sub>2</sub>), 69.5 (C-6, C-7), 68.3 (C-4), 62.6 (C-8), 36.7 (C-2), 21.3-20.9 (OCOCH<sub>3</sub>).

#### **148α**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ = 7.36-7.25 (m, 5 H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.40-5.30 (m, 3 H, 3-H, 6-H, 7-H), 5.01 (d, 1 H, 1-H), 4.77 (dd, 1 H, 4-H), 4.58 (dm 1 H, CH<sub>2a</sub>), 4.44 (d, 1 H, CH<sub>2b</sub>), 4.43

(m, 1 H, 8-Ha), 4.13 (m, 2 H, 5-H, 8-Hb), 2.22 (m, 1 H, 2-Ha), 2.01 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2ax} = 4.3$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 171.1$ -170.2 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 128.9-127.0 ( $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 96.2 (C-1), 69.1 ( $\text{CH}_2$ ), 68.0, 67.8 (C-6, C-7), 67.0 (C-3), 66.6 (C-4), 64.4 (C-5), 62.2 (C-8), 33.2 (C-2), 21.3-20.9 ( $\text{OCOCH}_3$ ).

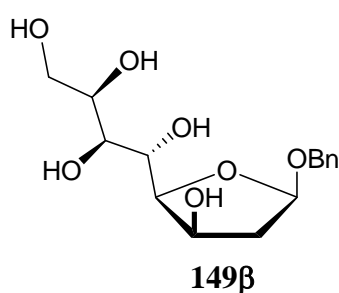
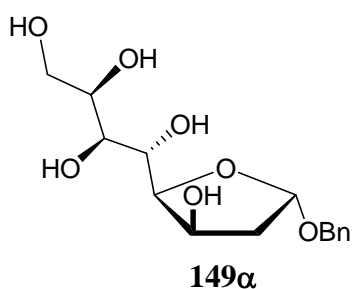
### 148 $\beta$

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 7.36$ -7.25 (m, 5 H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 5.48-5.30 (m, 3 H, 3-H, 6-H, 7-H), 4.83 (m, 1 H, 1-H), 4.74 (dd, 1 H, 4-H), 4.58 (dm 1 H,  $\text{CH}_{2a}$ ), 4.44 (d, 1 H,  $\text{CH}_{2b}$ ), 4.43 (m, 1 H, 8-Ha), 4.13 (m, 1 H, 8-Hb), 4.07 (dd, 1 H, 5-H), 2.05-1.95 (m, 2 H, 2-Ha, 2-Hb), 2.01 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 2.0$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 171.1$ -170.2 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 128.9-127.0 ( $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 98.7 (C-1), 71.0 ( $\text{CH}_2$ ), 70.3 (C-5), 70.0 (C-3), 67.9, 67.8 (C-6, C-7), 66.6 (C-4), 62.7 (C-8), 35.8 (C-2), 21.3-20.9 ( $\text{OCOCH}_3$ ).

$\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_{12}$  524.19

### Benzyl-2-desoxy-D-glycero-L-gluco-octofuranosid (149)



50 mg (0.23 mmol) **102/103** werden in 5 mL Benzylalkohol gelöst, mit  $\text{H}^+$ -Ionentauscher versetzt und 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Bildung eines unlöslichen Films am Kolbenrand wird beobachten. Das Reaktionsgemisch wird mit 20 mL  $\text{Et}_2\text{O}$  aufgenommen, die organische Phase abdekantiert und der unlösliche Rückstand in Wasser aufgenommen. Entfernen des Lösemittels unter vermindertem Druck liefern 24 mg eines leicht

verunreinigten Produkts, welches für NMR-Charakterisierung über Kieselgel (Chloroform/Methanol 2:1) aufgereinigt wird. 10 mg (0.03 mmol, 15%) des Furanosids **149 $\alpha$ /149 $\beta$**  1:1 werden erhalten.

$R_f = 0.65$  (Chloroform/Methanol 6:1)

#### **149 $\alpha$ /149 $\beta$**

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 7.48\text{--}7.39$  (m, 5 H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 5.54 (dd, 1 H, 1-H), 4.87 (ddd, 1 H, 3-H), 4.75 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2a}$ ), 4.60 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2b}$ ), 4.27 (dd, 1 H, 5-H), 3.83 (dd, 1 H, 6-H), 3.79 (ddd, 1 H, 7-H), 3.62 (m, 1 H, 8-Ha), 3.55 (dd, 1 H, 8-Hb), 2.38 (ddd, 1 H, 2-Ha), 2.16 (m, 1 H, 2-Hb);  $J_{1,2\text{eq}} = 5.5$  Hz,  $J_{1,2\text{ax}} = 2.9$  Hz,  $J_{2\text{eq},2\text{ax}} = 15.0$  Hz,  $J_{2\text{eq},3} = 1.7$  Hz,  $J_{4,5} = 1.1$  Hz,  $J_{5,6} = 5.5$  Hz,  $J_{6,7} = 5.3$  Hz,  $J_{7,8b} = 7.1$  Hz,  $J_{8a,8b} = 11.8$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 137.2$ , 129.3–128.8 ( $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 105.7 (C-1), 89.6 (C-4), 87.4 (C-6), 82.3 (C-3), 76.5 (C-5), 71.7 (C-7), 70.7 ( $\text{CH}_2$ ), 63.3 (C-8), 39.3 (C-2).

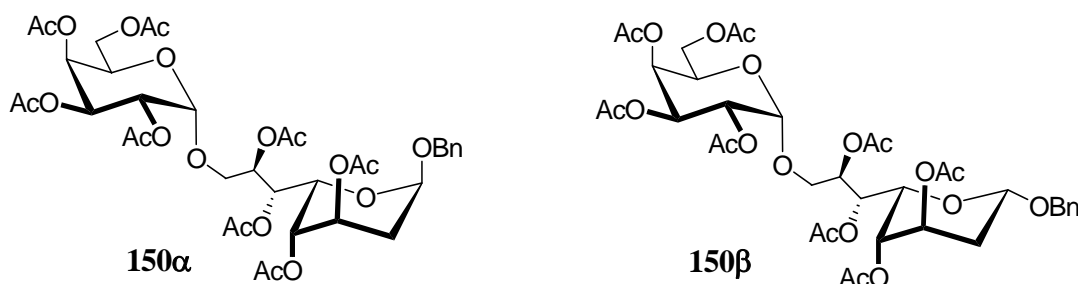
#### **149 $\alpha$ /149 $\beta$**

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 7.48\text{--}7.39$  (m, 5 H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 5.43 (dd, 1 H, 1-H), 4.78 (ddd, 1 H, 3-H), 4.75 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2a}$ ), 4.68 (dd, 1 H, 4-H), 4.60 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{2b}$ ), 4.17 (dd, 1 H, 5-H), 3.74 (dd, 1 H, 6-H), 3.68 (m, 2 H, 7-H, 8-Ha), 3.62 (m, 1 H, 8-Hb), 2.20 (m, 2 H, 2-Ha, 2-Hb);  $J_{1,2\text{eq}} = 1.6$  Hz,  $J_{1,2\text{ax}} = 4.7$  Hz,  $J_{4,5} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6} = 7.5$  Hz,  $J_{6,7} = 4.8$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 137.2$ , 129.3–128.8 ( $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 105.6 (C-1), 92.5 (C-4), 85.3 (C-6), 81.4 (C-3), 78.2 (C-5), 71.4 (C-7), 70.6 ( $\text{CH}_2$ ), 63.2 (C-8), 39.3 (C-2).

$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_7$  314.13

**Benzyl-8-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-3,4,6,7-tetra-O-acetyl-2-desoxy-D-glycero-D-galacto-octo-1,5-pyranosid (150)**



158 mg (0.21 mmol) **117β** werden unter Argon in 7 mL Dichlormethan gelöst, mit 44 mg (0.42 mmol, 2 äq.) Benzylalkohol, 0.03 mL (0.23 mmol)  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  versetzt und anschließend bei Raumtemperatur für 4 h gerührt. Nach Abschluß der Reaktion wird mit 7 mL Dichlormethan verdünnt, mit ges.  $\text{NaHCO}_3$  (10 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösemittel im Vakuum eingengt. 181 mg des erhaltenen Rohprodukts als gelber Sirup werden über Kieselgel aufgereinigt (Toluol/ $\text{AcOEt}$  1:1). 82 mg (0.10 mmol, 48%) des gewünschten Produkts **150α/150β** 1:1 als farbloser Sirup werden erhalten.

$R_f = 0.42$  (Toluol/ $\text{AcOEt}$  2:1)

**150α/150β**

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 7.37\text{--}7.28$  (m, 5 H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 5.50–5.45 (m, 3 H, 6 $\alpha$ -H, 6 $\beta$ -H, 4' $\alpha$ -H, 4' $\beta$ -H), 5.31 (dd, 1 H, 3' $\alpha$ -H), 5.28 (dd, 1 H, 3' $\beta$ -H), 5.16 (d, 1 H, 1' $\alpha$ -H), 5.14 (d, 1 H, 1' $\beta$ -H), 5.13–5.03 (m, 6 H, 3 $\alpha$ -H, 3 $\beta$ -H, 7 $\alpha$ -H, 7 $\beta$ -H, 2' $\alpha$ -H, 2' $\beta$ -H), 5.02 (dd, 1 H, 1-Ha), 4.91 (m, 2 H, 3 $\alpha$ -H, 4 $\alpha$ -H), 4.87 (d, 1 H,  $\beta\text{CH}_{2a}$ ), 4.76 (m, 1 H, 4 $\beta$ -H), 4.73 (dd, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.69 (d, 1 H,  $\alpha\text{CH}_{2a}$ ), 4.55 (d, 1 H,  $\beta\text{CH}_{2b}$ ), 4.47 (d, 1 H,  $\alpha\text{CH}_{2b}$ ), 4.39 (dd, 1 H, 5a-H), 4.29 (m, 2 H, 5' $\alpha$ -H, 5' $\beta$ -H), 4.08 (m, 2 H, 6' $\alpha$ -H, 6' $\beta$ -H), 3.96 (dd, 1 H, 5 $\beta$ -H), 3.85 (dd, 1 H,  $\alpha$ 8-Ha), 3.82 (dd, 1 H,  $\beta$ 8-Ha), 3.72–3.65 (m, 2 H,  $\alpha$ 8-Hb,  $\beta$ 8-Hb), 2.40 (ddd, 1 H,  $\beta$ 2-Ha), 2.33 (m, 1 H,  $\alpha$ 2-Ha), 2.18–1.95 (m, 26 H,  $\alpha$ 2-Hb,  $\beta$ 2-Hb,  $\text{OCOCH}_3$ );  $J_{4\alpha,5\alpha} = 1.7$  Hz,  $J_{4\beta,5\beta} = 1.4$  Hz,  $J_{5\alpha,6\alpha} = 6.7$  Hz,  $J_{5\beta,6\beta} = 6.6$  Hz,  $J_{7\alpha,8\alpha\alpha} = 7.2$  Hz,  $J_{7\beta,8\alpha\beta} = 7.1$ ,  $J_{8\alpha\alpha,8b\alpha} = 15.2$  Hz,  $J_{8\alpha\beta,8b\beta} = 15.1$ .

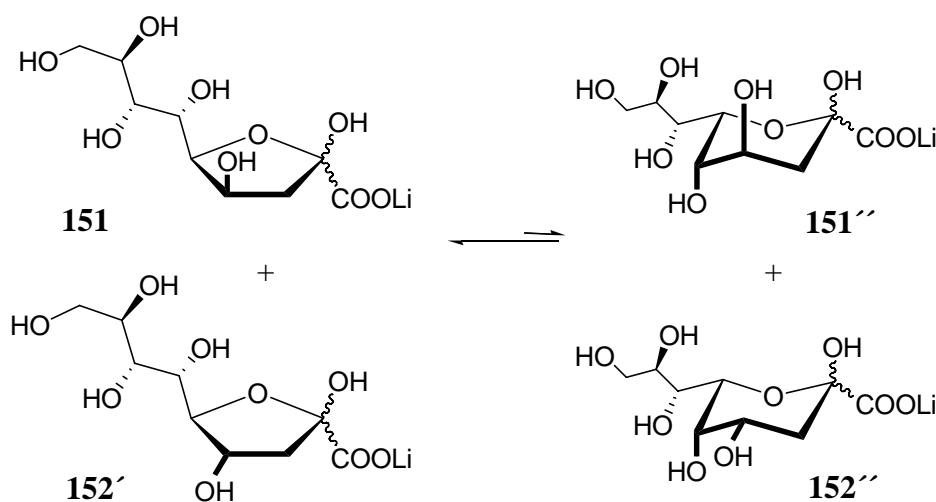
**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 169.6\text{--}167.8$  ( $\text{OCOCH}_3$ ), 136.6, 127.5–126.2 ( $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 96.6 (C-1 $\beta$ ), 95.3 (C-1' $\alpha$ , C-1' $\beta$ ), 94.6 (C-1 $\alpha$ ), 70.1 (C-5b), 69.8, 69.7, 69.6, 69.5 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ,

C-7 $\alpha$ , C-7 $\beta$ ), 68.0 (CH<sub>2</sub>), 67.1, 67.0, 66.9, 66.8 (C-2' $\alpha$ , C-2' $\beta$ , C-4' $\alpha$ , C-4' $\beta$ ), 66.4 (C-3' $\alpha$ , C-3' $\beta$ ), 65.6 (C-5' $\alpha$ , C-5' $\beta$ ), 65.3, 65.2 (C-4 $\alpha$ , C-4 $\beta$ ), 64.9 (C-8 $\alpha$ ), 64.6 (C-8 $\beta$ ), 63.9 (C-5 $\alpha$ ), 60.4, (C-6' $\alpha$ , C-6' $\beta$ ), 30.5 (C-2 $\beta$ ), 27.8 (C-2 $\alpha$ ), 20.1-19.6 (OCOCH<sub>3</sub>).

C<sub>37</sub>H<sub>48</sub>O<sub>20</sub> 812.27

### 3-Desoxy-D-glycero-D-ido-2-nonulosonsäure (151)

### 3-Desoxy-D-glycero-D-gulo-2-nonulosonsäure (152)



Ozonolyse von **35/36** nach **AAV 3** und anschließende Hydrolyse des Ozonolyseprodukts nach **AAV 4**.

Ansatz: 1.984 g (8 mmol) Diastereomerengemisch **35/36**

Ausbeute: 1.876 g (7 mmol, 88%) Diastereomerengemisch **151**(*threo*)-**152**(*erythro*) 6:1  
als farbloser Sirup. Furanoid/pyranoid-Form (**151/151''**: **152'/152''**) **70:30**

$R_f = 0.29$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/H<sub>2</sub>O 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 4.50 (m, 1 H, 4'-H), 4.43 (m, 1 H, 4-H), 4.34 (dd, 1 H, 6''-H), 4.31 (dd, 1 H, 5-H), 4.21 (m, 1 H, 5'-H), 4.14 (dd, 1 H, 6-H), 4.03 (m, 1 H, 4''-H), 3.95-3.65 (m, 14 H, 5''-H, 6'-H, 7-H, 8-H, 9-Ha, 9-Hb, 7'-H, 8'-H, 9'-Ha, 9'-Hb, 7''-H,

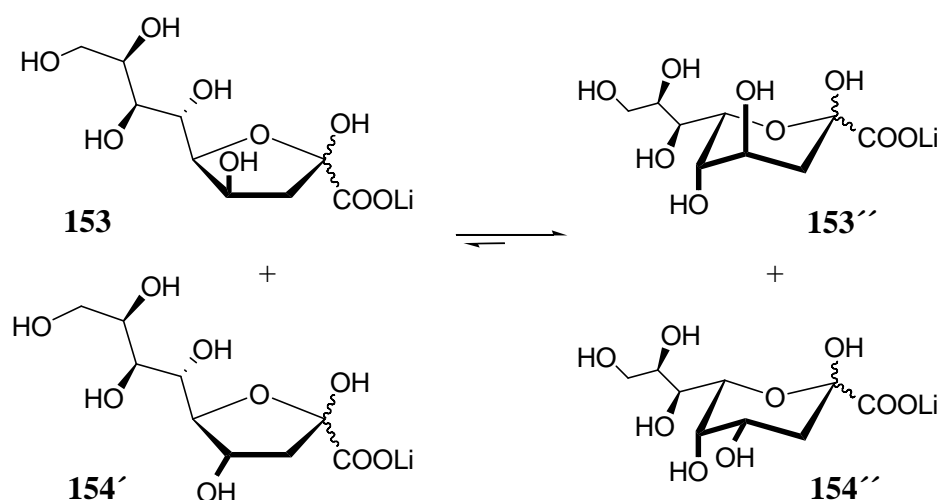
8''-H, 9''-Ha, 9''-Hb), 2.56 (dd, 1 H, 3'-Ha), 2.42 (dd, 1 H, 3-Ha), 2.37 (dd, 1 H, 3-Hb), 2.24 (dd, 1 H, 3''-Ha), 2.16 (dd, 1 H, 3'-Hb), 1.89 (dd, 1 H, 3''-Hb);  $J_{3a,3b} = 14.6$  Hz,  $J_{3a,4} = 1.9$  Hz,  $J_{3b,4} = 4.9$  Hz,  $J_{3a',3'b} = 14.3$  Hz,  $J_{3a',4} = 5.1$  Hz,  $J_{3b',4'} = 0.9$  Hz,  $J_{3''a,3''b} = 15.0$  Hz,  $J_{3''a,4''} = 3.7$  Hz,  $J_{3''b,4''} = 3.0$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 177.7, 177.3$  (C-1, C-1', C-1''), 103.2 (C-2, C-2'), 96.5 (C-2''), 85.7 (C-5'), 84.9 (C-5), 72.1 (C-4), 74.4, 71.5, 71.0, 70.8, 70.6, 69.5, 69.3, 69.2, 68.2, 66.8 (C-6, C-7, C-8, C-4', C-6', C-7', C-8', C-4'', C-6'', C-7'', C-8''), 63.4 (C-9, C-9'), 62.6 (C-9''), 45.3 (C-3'), 45.1 (C-3), 32.8 (C-3'').

$\text{C}_9\text{H}_{15}\text{LiO}_9$  274.15

**3-Desoxy-D-glycero-L-gluco-2-nonulosonsäure (153)**

**3-Desoxy-D-glycero-L-manno-2-nonulosonsäure (154)**



Ozonolyse von **41/42** nach **AAV 3** und anschließende Hydrolyse des Ozonolyseprodukts nach **AAV 4**.

Ansatz: 992 mg (4 mmol) Diastereomerengemisch **41/42**

Ausbeute: 938 mg (3.5 mmol, 88%) Diastereomerengemisch **153(threo)**-**154(erythro)** 6:1 als farbloser Sirup. Furanoide/pyranoide-Form (**153/154'** : **153''/154''**) 25:75

$R_f = 0.29$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/H<sub>2</sub>O 35:35:7:23)

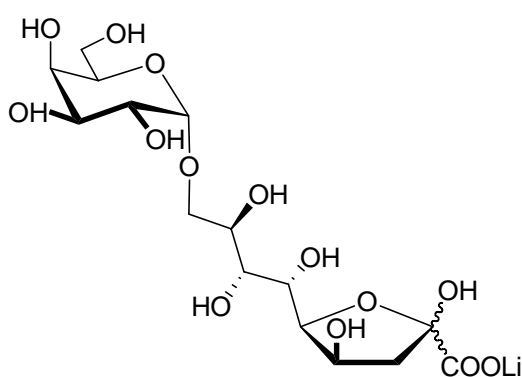
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 4.67$  (m, 1 H, 4-H), 4.60 (m, 1 H, 4'-H), 4.46 (m, 1 H, 5'-H), 4.25 (dd, 1 H, 6''-H), 4.12 (m, 1 H, 4''-H), 4.05 (dd, 1 H, 4''-H), 4.02-3.65 (m, 16 H, 5-H, 7-H, 8-H, 9-Ha, 9-Hb, 5'-H, 6'-H, 7'-H, 8'-H, 9'-Ha, 9'-Hb, 6''-H, 7''-H, 8''-H, 9''-Ha, 9''-Hb), 2.57 (m, 1 H, 3'-Ha), 2.40 (m, 2 H, 3''-Ha, 3''-Hb), 2.24 (dd, 3 H, 3-Ha, 3'-Ha), 2.16 (d, 1 H, 3'-Hb), 2.08 (dd, 1 H, 3''-Hb), 1.86 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 15.0$  Hz,  $J_{3a,4} = 3.6$  Hz,  $J_{3b,4} = 2.2$  Hz,  $J_{5,6} = 9.4$  Hz,  $J_{3a',3'b} = 14.8$  Hz,  $J_{3a',4} = 2.8$  Hz,  $J_{3b',4'} = 4.1$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 177.7$  (C-1, C-1', C-1''), 103.0 (C-2), 96.5 (C-2''), 81.4 (C-5), 71.3 70.9, 70.6, 70.5, 70.5, 70.4, 69.6, 68.7, 66.2 (C-8, C-4', C-5', C-6', C-7', C-8', C-4'', C-6'', C-7'', C-8''), 68.6 (C-7''), 68.0 (C-4''), 66.6 (C-6''), 66.4 (C-5''), 63.6, 63.1 (C-9''), 63.5 (C-9), 44.9 (C-3), 34.1 (C-3'), 32.1 (C-3'').

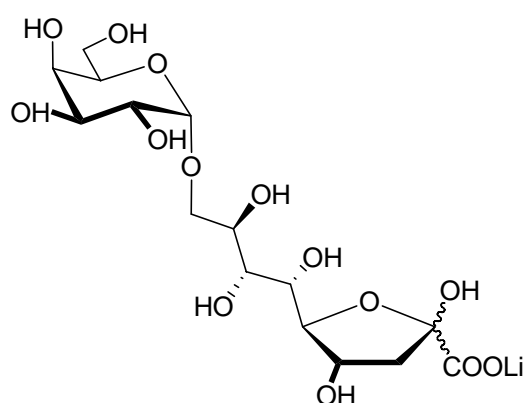
C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>LiO<sub>9</sub> 274.15

**9-O- $\alpha$ -Galactopyranosyl-3-desoxy-D-glycero-D-ido-2-nonulosonsäure (155)**

**9-O- $\alpha$ -Galactopyranosyl-3-desoxy-D-glycero-D-gulo-2-nonulosonsäure (156)**



155



156

Ozonolyse von **47-50** nach **AAV 3** und anschließende Hydrolyse des Ozonolyseprodukts nach **AAV 4**.



Ansatz: 40 mg (0.1 mmol) **47-50** in 15 mL MeOH  
10 Minuten O<sub>3</sub> einleiten  
0.05 mL DMS  
mit 0.5 M LiOH auf pH 9.0 einstellen  
4 d rühren

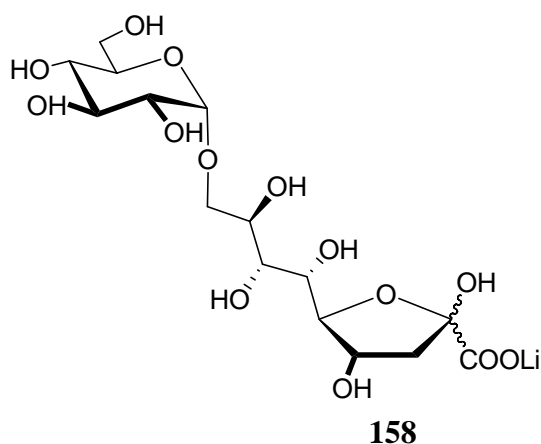
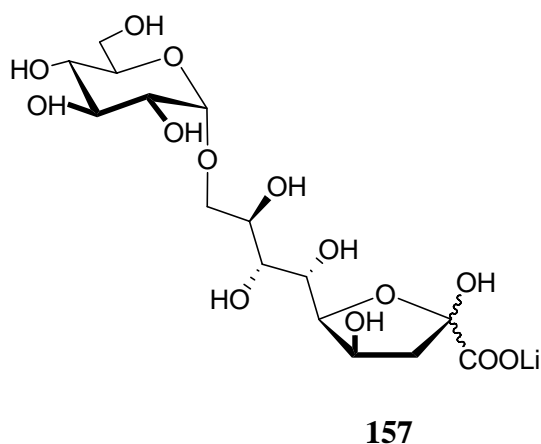
Ausbeute: 44 mg (0.1 mmol, quant.) **208**(*threo*)/**209**(*erythro*) als farbloser Lithiumsalz

$R_f = 0.44$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 4.80$  (d, 1 H, 1'-H), 3.96 (ddd, 1 H, 4-H), 3.85-3.60 (m, 1 H, 6-H, 7-H, 8-H, 9-Ha, 9-Hb, 2'-H, 4'-H, 5'-H), 3.56 (d, 2 H, 6-Ha, 6-Hb), 3.52- 3.46 (m, 2 H, 3'-H, 5-H), 2.30 (m, 2 H, 3-Ha, 3-Hb);  $J_{3ax,4} = 7.1$  Hz,  $J_{4,5} = 3.6$  Hz,  $J_{5,6} = 1.8$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.8$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 181.0$  (C-1), 99.3 (C-2, C-1'), 75.0 (C-5), 71.8 (C-5'), 71.1, 71.0, 70.4, 70.3, 70.2 (C-6, C-7, C-8, C-4', C-2'), 69.6 (C-9), 69.6, 69.4 (C-4, C-3'), 62.0 (C-6'), 42.4 (C-3).

C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>LiO<sub>14</sub> 436.14

**9-O- $\alpha$ -Glucopyranosyl-3-desoxy-D-glycero-D-ido-2-nonulosonsäure (157)****9-O- $\alpha$ -Glucopyranosyl-3-desoxy-D-glycero-D-gulo-2-nonulosonsäure (158)**

Ozonolyse von **53/54** nach **AAV 3** und anschließende Hydrolyse des Ozonolyseprodukts nach **AAV 4**.

Ansatz: 120 mg (0.29 mmol) **53/54** in 30 mL MeOH  
mit 0.5 M LiOH auf pH 9.0 einstellen  
4 d rühren

Ausbeute: 127 mg (0.29 mmol, quant.) **212(threo)/213(erythro)\*** 5:1 als farbloses Lithiumsalz

$R_f = 0.46$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

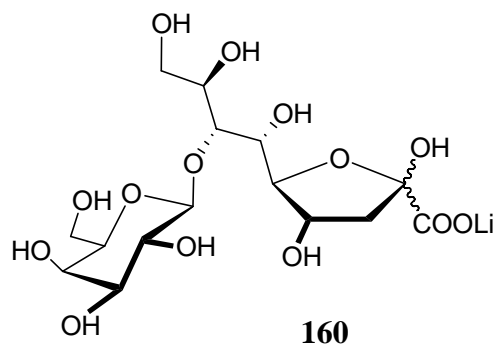
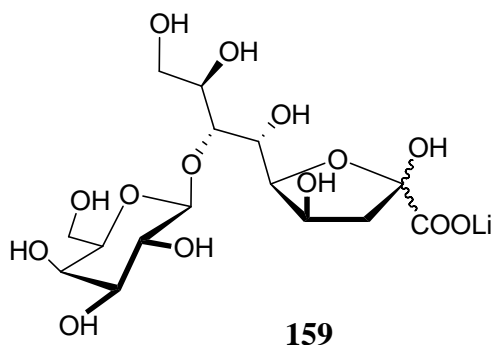
**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 4.73$  (d, 1 H, 1'-H), 3.92 (ddd, 1 H, 4-H), 4.75 (dd, 1 H, 6-H), 4.72 (m, 2 H, 8-H, 9-Ha), 3.64 (m, 1 H, 6'-Ha), 3.61 (m, 1 H, 7-H), 3.55-3.48 (m, 3 H, 3'-H, 4'-H, 6'-Hb), 3.45 (m, 2 H, 5-H, 9-Hb), 3.34 (dd, 1 H, 2'-H), 3.19 (dd, 1 H, 4'-H), 2.26 (m, 2 H, 3-Ha, 3-Hb);  $J_{3_{\text{ax}},4} = 7.1$  Hz,  $J_{4,5} = 3.6$  Hz,  $J_{5,6} = 1.8$  Hz,  $J_{6,7} = 6.7$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.7$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.8$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 178.0$  (C-1), 72.1 (C-5), 71.1 (C-5'), 69.8, 69.6 (C-2', C-3'), 68.3 (C-7), 67.8, 67.7, 67.4 (C-6, C-8, C-4'), 66.7 (C-4), 66.6 (C-9), 58.5 (C-6'), 39.5 (C-3).

$C_{15}H_{25}LiO_{14}$  436.14

**7-O- $\beta$ -Galactopyranosyl-3-desoxy-D-glycero-D-ido-2-nonulosonsäure (159)**

**7-O- $\beta$ -Galactopyranosyl-3-desoxy-D-glycero-D-gulo-2-nonulosonsäure (160)**



Ozonolyse von **61/62** nach **AAV 3** und anschließende Hydrolyse des Ozonolyseprodukts nach **AAV 4**.

Ansatz: 75 mg (0.18 mmol) **61/62** in 50 mL MeOH  
 15 Minuten  $O_3$  einleiten  
 mit 0.5 M LiOH auf pH 9.0 einstellen  
 5 d rühren

Ausbeute: 79 mg (0.18 mmol) **159**(*threo*)/**160**(*erythro*)\* 6.5:1 als farbloses Lithiumsalz

$R_f = 0.49$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

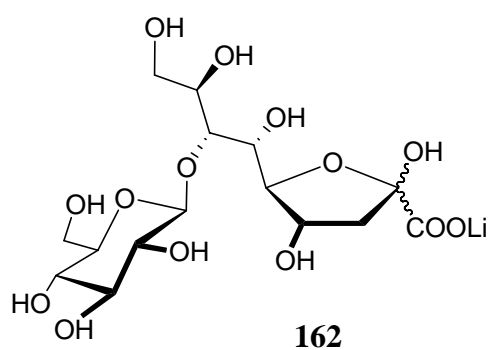
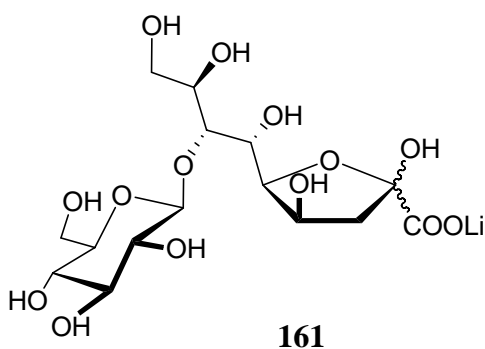
**$^1H$ -NMR (500 MHz,  $D_2O$ ):**  $\delta = 4.35$  (d, 1 H, 1'-H), 4.07 (ddd, 1 H, 4-H), 3.81 (dm, 3 H, 6-H, 8-H, 5'-H), 3.77 (m, 1 H, 4'-H), 4.73 (m, 1 H, 9-Ha), 3.64-3.54 (m, 3 H, 9-Hb, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.56 (m, 2 H, 7-H, 3'-H), 3.38 (dd, 1 H, 2'-H), 2.46 (dd, 1 H, 3-Ha $\beta$ ), 2.32 (dd, 1 H, 3-Hb $\beta$ ), 2.27 (dd, 1 H, 3-Hb $\alpha$ ), 2.17 (dd, 1 H, 3-Hb $\alpha$ );  $J_{3\alpha 3\beta} = 15.4$  Hz,  $J_{3\alpha, 4\alpha} = 8.7$  Hz,  $J_{3\beta, 4\alpha} = 4.6$  Hz,  $J_{3\alpha 3\beta} = 15.3$  Hz,  $J_{3\alpha, 4\alpha} = 4.1$  Hz,  $J_{3\beta, 4\alpha} = 9.3$  Hz,  $J_{4,5} = 3.5$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.4$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.0$  Hz,  $J_{3',4'} = 3.5$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 179.8 (C-1), 102.4 (C-1'), 78.1 (C-5'), 74.6 (C-7), 72.8 (C-5), 72.2 (C-3'), 71.0 (C-8), 70.8 (C-2'), 69.5 (C-6), 68.3, 68.2 (C-4, C-4'), 61.7 (C-9), 60.3 (C-6'), 40.9 (C-3).

$\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{LiO}_{14}$  436.14

**7-O- $\beta$ -Glucopyranosyl-3-desoxy-D-glycero-D-ido-2-nonulosonsäure (161)**

**7-O- $\beta$ -Glucopyranosyl-3-desoxy-D-glycero-D-gulo-2-nonulosonsäure (162)**



Ozonolyse von **69/70** nach **AAV 3** und anschließende Hydrolyse des Ozonolyseprodukts nach **AAV 4**.

Ansatz: 70 mg (0.17 mmol) **69/70** in 50 mL MeOH  
 15 Minuten  $\text{O}_3$  einleiten  
 mit 0.5 M LiOH auf pH 9.0 einstellen  
 5 d rühren

Ausbeute: 65 mg (0.15 mmol) **161**(*threo*)/**162**(*erythro*)\* 7:1 als farbloses Lithiumsalz

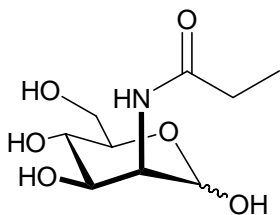
$R_f$  = 0.36 (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 4.68 (d, 1 H, 1'-H), 4.35 (ddd, 1 H, 4-H), 4.26 (ddd, 1 H, 4-H\*), 4.10-4.00 (m, 3 H, 6-H, 7-H, 8-H), 3.97 (m, 2 H, 9-Ha, 6'-Ha), 3.90-3.80 (m, 3 H, 5-H, 9-Ha, 6'-Hb), 3.60 (m, 1 H, 3'-H), 3.55 (m, 1 H, 4'-H, 5'-H), 3.43 (dd, 1 H, 2'-H), 2.64 (dd, 1 H, 3-Ha $\beta$ ), 2.60 (dd, 1 H, 3-Ha $\beta$ ), 2.52 (dd, 1 H, 3-Hb $\alpha$ ), 2.42 (dd, 1 H, 3-Hb $\alpha$ );

$J_{3a\alpha 3b\alpha} = 15.4$  Hz,  $J_{3a\alpha, 4\alpha} = 8.6$  Hz,  $J_{3b\alpha, 4\alpha} = 4.6$  Hz,  $J_{3a\beta 3b\beta} = 15.3$  Hz,  $J_{3a\alpha, 4\alpha} = 3.5$  Hz,  $J_{3b\alpha, 4\alpha} = 9.3$  Hz,  $J_{4,5} = 3.5$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.8$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 180.6$  (C-1), 102.4 (C-1'), 78.9 (C-7), 76.1, 76.0 (C-3', C-5'), 73.8, 73.3 (C-5, C-2'), 71.8, 70.4 (C-6, C-8), 69.6 (C-4'), 69.0 (C-4), 62.5 (C-9), 60.5 (C-6'), 41.7 (C-3).

$\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{LiO}_{14}$  436.14

**N-Propanoyl-2-amino-2-desoxy-mannose (163)****ManNProp****Ansatz nach AAV 7a**600 mg (2.79 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl

0.43 mL (3.35 mmol, 1.2 äq) Propionsäureanhydrid

165 mg (3.07 mmol, 1.1 äq) NaOMe

282 mg (2.79 mmol) Et<sub>3</sub>N

17.5 ml Methanol

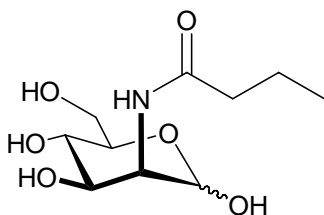
Ausbeute: 500 mg (2.13 mmol, 76%) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

$R_f = 0.44$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.02 (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 4.94 (d, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.37 (dd, 1 H, 2 $\beta$ -H), 4.23 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 3.97 (dd, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.85 (dd, 1 H, 6 $\beta$ -Ha), 3.76-3.69 (m, 5 H, 5 $\alpha$ -H, 3 $\beta$ -H, 6 $\beta$ -Hb, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\alpha$ -Hb), 3.54 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.43 (dd, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.32 (ddd, 1 H, 5 $\beta$ -H), 2.28 (q, 2 H, 8 $\beta$ -Ha, 8 $\beta$ -Hb), 2.22 (q, 2 H, 8 $\alpha$ -Ha, 8 $\alpha$ -Hb), 1.04 (t, 3 H, 9 $\alpha$ -H), 1.02 (t, 3 H, 9 $\beta$ -H);  $J_{1,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{1,2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{2,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{2,3\beta} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{5,6a\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6b\beta} = 5.1$  Hz,  $J_{8\alpha,9\alpha} = 7.6$  Hz,  $J_{8\beta,9\beta} = 7.6$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 178.0 (C-7 $\alpha$ ), 179.1 (C-7 $\beta$ ), 93.6 (C-1 $\alpha$ ), 93.4 (C-1 $\beta$ ), 76.8 (C-5 $\beta$ ), 72.4 (C-3 $\beta$ , C-5 $\alpha$ ), 69.2 (C-3 $\alpha$ ), 67.2 (C-4 $\alpha$ ), 66.9 (C-4 $\beta$ ), 60.8 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 54.3 (C-2 $\beta$ ), 53.5 (C-2 $\alpha$ ), 29.4 (C-8 $\beta$ ), 29.3 (C-8 $\alpha$ ), 9.9 (C-9 $\alpha$ , C-9 $\beta$ ).

C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>6</sub> 235.23

**N-Butanoyl-2-amino-2-desoxy-mannose (164)****ManNBut****Ansatz nach AAV 7a**

646 mg (3.0 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl

0.43 mL (3.35 mmol, 1.2 äq) Buttersäureanhydrid

181 mg (3.4 mmol, 1.1 äq) NaOMe

303 mg (3.0 mmol) Et<sub>3</sub>N

20 ml Methanol

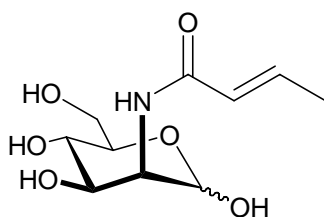
Ausbeute: 747 mg (3.0 mmol, 100%) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

$R_f = 0.21$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 5:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.02 (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 4.97 (d, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.40 (dd, 1 H, 2 $\beta$ -H), 4.28 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 4.01 (dd, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.84 (dd, 1 H, 6 $\beta$ -Ha), 3.82-3.73 (m, 5 H, 5 $\alpha$ -H, 3 $\beta$ -H, 6 $\beta$ -Hb, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\alpha$ -Hb), 3.58 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.47 (dd, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.37 (ddd, 1 H, 5 $\beta$ -H), 2.28 (t, 2 H, 8 $\beta$ -Ha, 8 $\beta$ -Hb), 2.24 (t, 2 H, 8 $\alpha$ -Ha, 8 $\alpha$ -Hb), 1.62-1.58 (m, 4 H, 9 $\alpha$ -Ha, 9 $\alpha$ -Hb, 9 $\beta$ -Ha, 9 $\beta$ -Hb), 0.90-0.83 (m, 6 H, 10 $\alpha$ -H, 10 $\beta$ -H);  $J_{1,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{1,2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{2,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{2,3\beta} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{5,6a\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6b\beta} = 5.1$  Hz,  $J_{8\alpha,9\alpha} = 7.6$  Hz,  $J_{8\beta,9\beta} = 7.6$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 179.1.0 (C-7 $\alpha$ ), 178.3 (C-7 $\beta$ ), 93.6 (C-1 $\alpha$ ), 93.4 (C-1 $\beta$ ), 76.8 (C-5 $\beta$ ), 72.4 (C-3 $\beta$ , C-5 $\alpha$ ), 69.2 (C-3 $\alpha$ ), 67.2 (C-4 $\alpha$ ), 66.9 (C-4 $\beta$ ), 60.8 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 54.3 (C-2 $\beta$ ), 53.5 (C-2 $\alpha$ ), 38.1 (C-8 $\beta$ ), 37.9 (C-8 $\alpha$ ), 19.4 (C-9 $\alpha$ ), 19.2 (C-9 $\beta$ ), 13.3 (C-9 $\alpha$ ), 13.2 (C-9 $\beta$ ).

C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>6</sub> 249.26

**N-Crotonoyl-2-amino-2-desoxy-mannose (165)****ManNCrot****Ansatz nach AAV 7a**430 mg (2.0 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl

235 mg (2.4 mmol, 1.2 äq) Crotylsäurechlorid

118 mg (2.2 mmol, 1.1 äq) NaOMe

202 mg (2.0 mmol) Et<sub>3</sub>N

10 ml Methanol

Ausbeute: 374 mg (1.51 mmol, 76%) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

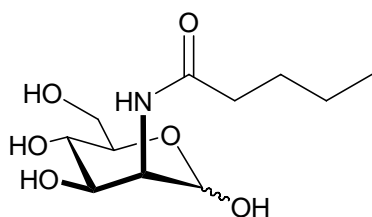
$R_f = 0.23$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 4:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 6.62 (m 2 H, 9 $\alpha$ -H, 9 $\beta$ -H), 5.87 (ddd, 1 H, 8 $\beta$ -H), 5.84 (ddd, 1 H, 8 $\beta$ -H), 4.89 (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 4.81 (d, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.29 (dd, 1 H, 2 $\beta$ -H), 4.16 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 3.84 (dd, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.66 (dd, 1 H, 6 $\beta$ -Ha), 3.64-3.56 (m, 5 H, 5 $\alpha$ -H, 3 $\beta$ -H, 6 $\beta$ -Hb, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\alpha$ -Hb), 3.40 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.29 (dd, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.18 (ddd, 1 H, 5 $\beta$ -H), 1.63 (m, 3 H, 10 $\alpha$ -H, 10 $\beta$ -H);  $J_{1,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{1,2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{2,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{2,3\beta} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{5,6a\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6b\beta} = 5.1$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 170.8 (C-7 $\alpha$ ), 169.9 (C-7 $\beta$ ), 143.3 (C-8 $\alpha$ ), 143.2 (C-8 $\beta$ ), 124.0 (C-9 $\beta$ ), 123.8 (C-9 $\alpha$ ), 93.6 (C-1 $\alpha$ ), 93.5 (C-1 $\beta$ ), 76.8 (C-5 $\beta$ ), 72.4 (C-3 $\beta$ , C-5 $\alpha$ ), 69.2 (C-3 $\alpha$ ), 67.2 (C-4 $\alpha$ ), 66.9 (C-4 $\beta$ ), 60.8 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 54.3 (C-2 $\beta$ ), 53.5 (C-2 $\alpha$ ), 17.6 (C-10 $\alpha$ , C-10 $\beta$ ).

C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>6</sub> 247.25



**N-Pentanoyl-2-amino-2-desoxy-mannose (166)****ManNPent****Ansatz nach AAV 7a**646 mg (3.0 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl

670 mg (3.6 mmol, 1.2 äq) Valeriansäureanhydrid

181 mg (3.4 mmol, 1.1 äq) NaOMe

303 mg (3.0 mmol) Et<sub>3</sub>N

20 ml Methanol

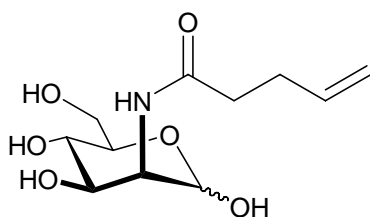
Ausbeute: 556 mg (2.2 mmol, 72%) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

$R_f = 0.33$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 5:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.06 (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 4.97 (d, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.40 (dd, 1 H, 2 $\beta$ -H), 4.28 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 4.01 (dd, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.84 (dd, 1 H, 6 $\beta$ -Ha), 3.82-3.73 (m, 5 H, 5 $\alpha$ -H, 3 $\beta$ -H, 6 $\beta$ -Hb, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\alpha$ -Hb), 3.58 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.47 (dd, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.37 (ddd, 1 H, 5 $\beta$ -H), 2.31 (t, 2 H, 8 $\beta$ -Ha, 8 $\beta$ -Hb), 2.26 (t, 2 H, 8 $\alpha$ -Ha, 8 $\alpha$ -Hb), 1.53 (m, 4 H, 9 $\alpha$ -Ha, 9 $\alpha$ -Hb, 9 $\beta$ -Ha, 9 $\beta$ -Hb), 1.28 (m, 4 H, 10 $\alpha$ -H, 10 $\beta$ -H), 0.84 (m, 6 H, 11 $\alpha$ -H, 11 $\beta$ -H);  $J_{1,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{1,2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{2,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{2,3\beta} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{5,6\alpha\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6\beta} = 5.1$  Hz,  $J_{8\alpha,9\alpha} = 7.6$  Hz,  $J_{8\beta,9\beta} = 7.6$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 179.3 (C-7 $\beta$ ), 178.5 (C-7 $\alpha$ ), 93.6 (C-1 $\alpha$ ), 93.4 (C-1 $\beta$ ), 76.8 (C-5 $\beta$ ), 72.4 (C-3 $\beta$ , C-5 $\alpha$ ), 69.2 (C-3 $\alpha$ ), 67.2 (C-4 $\alpha$ ), 66.9 (C-4 $\beta$ ), 60.8 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 54.3 (C-2 $\beta$ ), 53.5 (C-2 $\alpha$ ), 36.0 (C-8 $\beta$ ), 35.8 (C-8 $\alpha$ ), 28.0 (C-9 $\alpha$ , C-9 $\beta$ ), 22.1 (C-10 $\alpha$ ), 22.0 (C-10 $\beta$ ), 13.5 (C-11 $\alpha$ , C-11 $\beta$ ).

C<sub>11</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>6</sub> 263.29

**N-Pentenoyl-2-amino-2-desoxy-mannose (167)****ManNPenten****Ansatz nach AAV 7a**646 mg (3.0 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl

663 mg (3.6 mmol, 1.2 äq) Pent-5-ensäureanhydrid

181 mg (3.4 mmol, 1.1 äq) NaOMe

303 mg (3.0 mmol) Et<sub>3</sub>N

20 ml Methanol

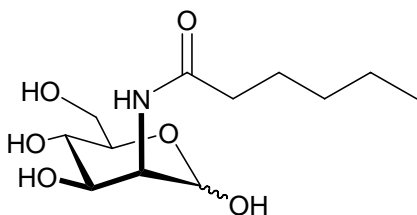
Ausbeute: 763 mg (3.0 mmol, 100%) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

$R_f = 0.30$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 5:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.90-5.78 (m, 2 H, 10-H $\alpha$ , 10-H $\beta$ ), 5.10-4.96 (m, 6 H, 1 $\alpha$ -H, 1 $\beta$ -H, 11a-H $\alpha$ , 11a-H $\beta$ , 11b-H $\alpha$ , 11b-H $\beta$ ), 4.40 (dd, 1 H, 2 $\beta$ -H), 4.27 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 4.00 (dd, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.84 (dd, 1 H, 6 $\beta$ -Ha), 3.82-3.73 (m, 5 H, 5 $\alpha$ -H, 3 $\beta$ -H, 6 $\beta$ -Hb, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\alpha$ -Hb), 3.57 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.46 (dd, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.36 (ddd, 1 H, 5 $\beta$ -H), 2.44-2.28 (m, 8 H, 8 $\alpha$ -Ha, 8 $\alpha$ -Hb, 8 $\beta$ -Ha, 8 $\beta$ -Hb, 9 $\alpha$ -Ha, 9 $\alpha$ -Hb, 9 $\beta$ -Ha, 9 $\beta$ -Hb);  $J_{1,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{1,2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{2,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{2,3\beta} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{5,6a\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6b\beta} = 5.1$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 178.2 (C-7 $\beta$ ), 177.3 (C-7 $\alpha$ ), 137.9 (C-10 $\beta$ ), 137.6 (C-10 $\alpha$ ), 116.0 (C-11 $\alpha$ ), 115.9 (C-11 $\beta$ ), 93.6 (C-1 $\alpha$ ), 93.4 (C-1 $\beta$ ), 76.8 (C-5 $\beta$ ), 72.4 (C-3 $\beta$ , C-5 $\alpha$ ), 69.2 (C-3 $\alpha$ ), 67.2 (C-4 $\alpha$ ), 66.9 (C-4 $\beta$ ), 60.8 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 54.3 (C-2 $\beta$ ), 53.5 (C-2 $\alpha$ ), 36.4 (C-8 $\beta$ ), 35.2 (C-8 $\alpha$ ), 29.7 (C-9 $\alpha$ ), 29.6 (C-9 $\beta$ ).

C<sub>11</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>6</sub> 261.27

**N-Hexanoyl-2-amino-2-desoxy-mannose (168)****ManNHex****Ansatz nach AAV 7b**432 mg (2.0 mmol) ManNH<sub>2</sub>\*HCl

323 mg (2.4 mmol, 1.2 äq) Hexansäurechlorid

181 mg (2.2 mmol, 1.1 äq) 1-Hydroxy-benzotriazol

202 mg (2.0 mmol) Et<sub>3</sub>N

10 ml DMF

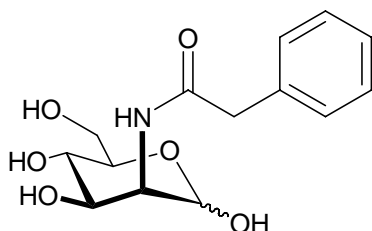
Ausbeute: 444 mg (1.6 mmol, 80%) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

 $R_f = 0.13$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.01 (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 4.97 (d, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.40 (dd, 1 H, 2 $\beta$ -H), 4.27 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 4.01 (dd, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.84 (dd, 1 H, 6 $\beta$ -Ha), 3.82-3.73 (m, 5 H, 5 $\alpha$ -H, 3 $\beta$ -H, 6 $\beta$ -Hb, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\alpha$ -Hb), 3.58 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.47 (dd, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.37 (ddd, 1 H, 5 $\beta$ -H), 2.30 (t, 2 H, 8 $\beta$ -Ha, 8 $\beta$ -Hb), 2.26 (t, 2 H, 8 $\alpha$ -Ha, 8 $\alpha$ -Hb), 1.51 (m, 4 H, 9 $\alpha$ -Ha, 9 $\alpha$ -Hb, 9 $\beta$ -Ha, 9 $\beta$ -Hb), 1.25 (m, 4 H, 10 $\alpha$ -H, 10 $\beta$ -H, 11 $\alpha$ -H, 11 $\beta$ -H), 0.82 (m, 6 H, 12 $\alpha$ -H, 12 $\beta$ -H);  $J_{1,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{1,2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{2,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{2,3\beta} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{5,6\alpha\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6\beta} = 5.1$  Hz,  $J_{8\alpha,9\alpha} = 7.6$  Hz,  $J_{8\beta,9\beta} = 7.6$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 179.2 (C-7 $\beta$ ), 178.4 (C-7 $\alpha$ ), 93.5 (C-1 $\alpha$ ), 93.3 (C-1 $\beta$ ), 76.6 (C-5 $\beta$ ), 72.3 (C-3 $\beta$ , C-5 $\alpha$ ), 69.1 (C-3 $\alpha$ ), 67.1 (C-4 $\alpha$ ), 66.8 (C-4 $\beta$ ), 60.7 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 54.2 (C-2 $\beta$ ), 53.4 (C-2 $\alpha$ ), 36.1 (C-8 $\beta$ ), 35.9 (C-8 $\alpha$ ), 30.9 (C-9 $\alpha$ , C-9 $\beta$ ), 25.4 (C-10 $\alpha$ , C-10 $\beta$ ), 22.0 (C-11 $\alpha$ , C-11 $\beta$ ), 13.5 (C-12 $\alpha$ , C-12 $\beta$ ).

C<sub>12</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>6</sub> 277.31

**N-Phenylacetyl-2-amino-2-desoxy-mannose (169)****ManNAcPh****Ansatz nach AAV 7a**

646 mg (3.0 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl  
 555 mg (3.6 mmol, 1.2 äq) Benzoylchlorid  
 181 mg (3.4 mmol, 1.1 äq) NaOMe  
 303 mg (3.0 mmol) Et<sub>3</sub>N  
 20 ml MeOH

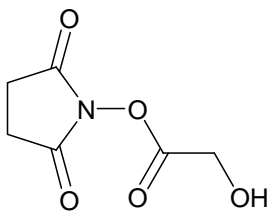
Ausbeute: 540 mg (1.95 mmol, 65%) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie  
 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

$R_f = 0.28$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 5:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 7.38\text{--}7.27$  (m, 10 H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.05 (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 4.97 (d, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.40 (dd, 1 H, 2 $\beta$ -H), 4.27 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 4.02 (dd, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.84 (dd, 1 H, 6 $\beta$ -Ha), 3.82–3.73 (m, 5 H, 5 $\alpha$ -H, 3 $\beta$ -H, 6 $\beta$ -Hb, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\alpha$ -Hb), 3.70–3.60 (m, 4 H, 8 $\alpha$ -Ha, 8 $\alpha$ -Hb, 8 $\beta$ -Ha, 8 $\beta$ -Hb), 3.58 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.47 (dd, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.37 (ddd, 1 H, 5 $\beta$ -H), 2.30 (t, 2 H, 8 $\beta$ -Ha, 8 $\beta$ -Hb), 2.26 (t, 2 H, 8 $\alpha$ -Ha, 8 $\alpha$ -Hb), 1.51 (m, 4 H, 9 $\alpha$ -Ha, 9 $\alpha$ -Hb, 9 $\beta$ -Ha, 9 $\beta$ -Hb), 1.25 (m, 4 H, 10 $\alpha$ -H, 10 $\beta$ -H, 11 $\alpha$ -H, 11 $\beta$ -H), 0.82 (m, 6 H, 12 $\alpha$ -H, 12 $\beta$ -H);  $J_{1,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{1,2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{2,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{2,3\beta} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{5,6\alpha\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6\beta} = 5.1$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 175.8$  (C-7 $\beta$ ), 175.6 (C-7 $\alpha$ ), 135.5 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 129.8 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 129.6 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 129.3 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 127.7 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 93.5 (C-1 $\alpha$ ), 93.4 (C-1 $\beta$ ), 76.8 (C-5 $\beta$ ), 72.5 (C-3 $\beta$ , C-5 $\alpha$ ), 69.2 (C-3 $\alpha$ ), 67.2 (C-4 $\alpha$ ), 67.0 (C-4 $\beta$ ), 60.8 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 54.7 (C-2 $\beta$ ), 53.8 (C-2 $\alpha$ ), 42.6 (C-8 $\beta$ ), 42.5 (C-8 $\alpha$ ).

C<sub>12</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>6</sub> 277.31

**Glykolsäure-*N*-hydroxy-succinimidyl-ester (170)**

1.38 g (12 mmol) *N*-Hydroxysuccinimid, 0.912 g (12 mmol) Glykolsäure und 2.47 g (12 mmol) DCC werden für 3 h in 25 mL Dioxan erst bei 0°C dann für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Suspension filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird aus Ethanol und Cyclohexan umkristallisiert. 1.7 g (82 %) des aktivierten Esters werden als farbloser Kristalle erhalten.

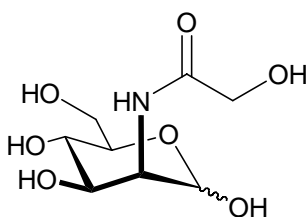
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 3.93 (dd, 2 H, 2-Ha, 2-Hb), 2.71 (s, 4 H, 2'-Ha, 2'-Hb, 3'-Ha, 3'-Hb).

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 176.9 (C-1', C-4'), 176.7 (C-1), 59.7 (C-2), 25.6 (C-2', C-3').

C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>5</sub>      173.12

***N*-Glykoloyl-2-amino-2-desoxy-mannose (171)**

**ManNAcOH**



Ansatz nach **AAV 7a**

432 mg (2.0 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl

514 mg (3.0 mmol, 1.5 äq) Glykolsäure-*N*-hydroxy-succinimidyl-ester **170**

0.57 mL (3.0 mmol) Et<sub>3</sub>N

10 ml MeOH

Ausbeute: 350 mg (1.48 mmol, 74%) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

#### Ansatz nach **AAV 7b**

216 mg (1.0 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl

76 mg (1.0 mmol, 1.0 äq) Glykolsäure

150 mg (1.1 mmol, 1.1 äq) 1-Hydroxybenzotriazol

101 mg (1.1 mmol) Et<sub>3</sub>N

4 ml DMF

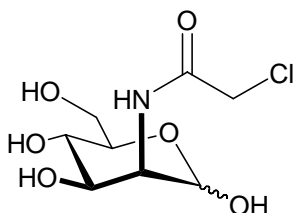
Ausbeute: 220 mg (0.93 mmol, 93%) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

$R_f = 0.11$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 5:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.27 (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 5.19 (d, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.61 (dd, 1 H, 2 $\beta$ -H), 4.48 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 4.30 (s, 2 H, 8 $\alpha$ -Ha, 8 $\beta$ -Ha), 4.26 (s, 2 H, 8 $\alpha$ -Hb, 8 $\beta$ -Hb), 4.21 (dd, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 4.02 (dd, 1 H, 6 $\beta$ -Ha), 4.00-3.94 (m, 4 H, 5 $\alpha$ -H, 3 $\beta$ -H, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\alpha$ -Hb), 3.90 (dd, 1 H 6 $\beta$ -Hb), 3.74 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.63 (dd, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.56 (ddd, 1 H, 5 $\beta$ -H);  $J_{1,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{1,2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{2,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{2,3\beta} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{5,6a\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6b\beta} = 5.1$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 176.4 (C-7 $\beta$ ), 175.5 (C-7 $\alpha$ ), 93.3 (C-1 $\alpha$ , C-1 $\beta$ ), 76.9 (C-5 $\beta$ ), 72.5 (C-3 $\beta$ ), 72.4 (C-5 $\alpha$ ), 69.2 (C-3 $\alpha$ ), 67.2 (C-4 $\alpha$ ), 67.0 (C-4 $\alpha$ ), 61.4 (C-8 $\beta$ ), 61.3 (C-8 $\alpha$ ), 60.9 (C-6 $\beta$ ), 60.8 (C-6 $\alpha$ ), 54.2 (C-2 $\beta$ ), 53.3 (C-2 $\alpha$ ).

C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>7</sub> 237.21

**N-Chloroacetyl-2-amino-2-desoxy-mannose (172)****ManNAcCl****Ansatz nach AAV 7b**

432 mg (2.0 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl

189 mg (2.0 mmol, 1.0 äq) Chloressigsäure

300 mg (2.2 mmol, 1.2 äq) 1-Hydroxybenzotriazol

202 mg (2.2 mmol) Et<sub>3</sub>N

0.372 mL *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid

8 ml DMF

Ausbeute: 378 mg (1.48 mmol, 74%) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

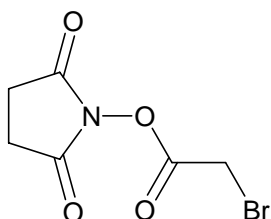
$R_f = 0.40$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 2:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.17$  (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 5.07 (d, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.49 (dd, 1 H, 2 $\beta$ -H), 4.36 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 4.25 (s, 2 H, 8 $\alpha$ -Ha, 8 $\alpha$ -Hb), 4.20 (s, 2 H, 8 $\beta$ -Ha, 8 $\beta$ -Hb), 4.09 (dd, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.92-3.83 (m, 5 H, 5 $\alpha$ -H, 3 $\beta$ -H, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\alpha$ -Hb, 6 $\beta$ -Ha), 3.80 (dd, 1 H, 6 $\beta$ -Hb), 3.62 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.52 (dd, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.44 (ddd, 1 H, 5 $\beta$ -H);  $J_{1,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{1,2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{2,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{2,3\beta} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{5,6a\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6b\beta} = 5.1$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 171.4$  (C-7 $\beta$ ), 170.6 (C-1 $\alpha$ ), 93.2 (C-1 $\alpha$ , C-1 $\beta$ ), 76.8 (C-5 $\beta$ ), 72.4 (C-3 $\beta$ , C-5 $\alpha$ ), 69.2 (C-3 $\alpha$ ), 67.1 (C-4 $\alpha$ ), 68.9 (C-4 $\beta$ ), 60.8 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 55.1 (C-2 $\beta$ ), 54.1 (C-2 $\alpha$ ), 42.9 (C-8 $\beta$ ), 42.7 (C-8 $\alpha$ ).

C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>ClNO<sub>6</sub>

255.65

**Bromessigsäure-*N*-Hydroxy-succinimidyl-ester (173)**

2.76 g (24 mmol, 1.2 eq.) *N*-Hydroxysuccinimid, 2.78 g (20 mmol) Bromessigsäure und 4.54 g (2.2 mmol, 1.1 eq.) DCC werden für 1.5 h in 160 mL Dioxan bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Suspension gefiltert und das Filtrat bis zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird aus Dichlormethan und Petrolether umkristallisiert. 4.52 g (96 %) des aktivierten Esters als farbloser Kristalle werden erhalten.

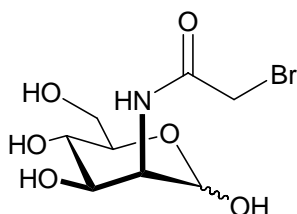
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 4.03 (s, 2 H, 2-Ha, 2-Hb), 2.80 (s, 4 H, 2'-Ha, 2'-Hb, 3'-Ha, 3'-Hb).

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 171.4 (C-1', C-4'), 165.2 (C-1), 34.9 (C-2), 22.3 (C-2', C-3').

C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>BrNO<sub>4</sub>            236.02

***N*-Bromoacetyl-2-amino-2-desoxy-mannose (174)**

**ManNAcBr**



Ansatz nach **AAV 7a**

299 mg (1.38 mmol) ManNH<sub>2</sub>\*HCl

485 mg (2.07 mmol, 1.5 äq) Bromessigsäure-*N*-Hydroxy-succinimidyl-ester **173**



307 mg (3.0 mmol) Et<sub>3</sub>N

8 ml MeOH

Ausbeute: 289 mg (0.96 mmol, 70%) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

Ansatz nach **AAV 7b**

216 mg (1.0 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl

139 mg (1.0 mmol, 1.0 äq) Bromessigsäure

150 mg (1.1 mmol, 1.1 äq) 1-Hydroxybenzotriazol

186 µL (1.0 mmol, 1 äq) *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid

101 mg (1.1 mmol) Et<sub>3</sub>N

4 ml DMF

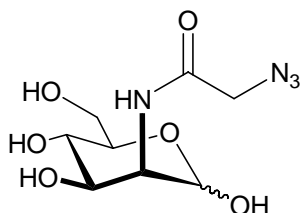
Ausbeute: 96 mg (0.32 mmol, 32%) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

*R*<sub>f</sub> = 0.21 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 4:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 5.02 (d, 1 H, 1α-H), 4.93 (d, 1 H, 1β-H), 4.35 (dd, 1 H, 2β-H), 4.22 (dd, 1 H, 2α-H), 4.11 (s, 2 H, 8α-Ha, 8α-Hb), 4.06 (s, 2 H, 8β-Ha, 8β-Hb), 3.95 (dd, 1 H, 3α-H), 3.78-3.69 (m, 5 H, 5α-H, 3β-H, 6α-Ha, 6α-Hb, 6β-Ha), 3.66 (dd, 1 H, 6β-Hb), 3.48 (dd, 1 H, 4α-H), 3.38 (dd, 1 H, 4β-H), 3.30 (ddd, 1 H, 5β-H); *J*<sub>1,2α</sub> = 1.6 Hz, *J*<sub>1,2β</sub> = 1.7 Hz, *J*<sub>2,3α</sub> = 4.7 Hz, *J*<sub>2,3β</sub> = 4.4 Hz, *J*<sub>3,4α</sub> = 9.9 Hz, *J*<sub>3,4β</sub> = 9.8 Hz, *J*<sub>4,5α</sub> = 9.6 Hz, *J*<sub>4,5β</sub> = 9.8 Hz, *J*<sub>5,6aβ</sub> = 2.3 Hz, *J*<sub>5,6bβ</sub> = 5.1 Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 170.6 (C-7α, C-1β), 93.2 (C-1α, C-1β), 76.8 (C-5β), 72.4 (C-3β, C-5α), 69.2 (C-3α), 67.2 (C-4α), 66.9 (C-4β), 60.8 (C-6α, C-6β), 55.1 (C-2β), 54.1 (C-2α), 42.9 (C-8β), 42.7 (C-8α).

C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>Br NO<sub>7</sub>                      300.1

**N-Azidoacetyl-2-amino-2-desoxy-mannose (175)****ManNAcN<sub>3</sub>**Ansatz: 541 mg (1.8 mmol) ManNAcBr **174**436 mg (2.76 mmol, 1.5 äq) *N,N,N',N'*-Tetramethylguanidiniumazid

4 ml MeOH

12 h

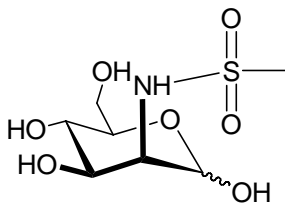
Ausbeute: 184 mg (0.7 mmol, 51%, über 2 Stufen) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1). $R_f = 0.22$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 4:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.10$  (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 5.01 (d, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.45 (dd, 1 H, 2 $\beta$ -H), 4.32 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 3.99 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 3.90-3.82 (m, 3 H, 3 $\beta$ -H, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\beta$ -Ha), 3.80 (m, 1 H, 5 $\alpha$ -H), 3.75-3.67 (m, 2 H, 6 $\beta$ -Hb, 6 $\alpha$ -Hb), 3.62 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.51 (dd, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.36 (ddd, 1 H, 5 $\beta$ -H);  $J_{1,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{1,2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{2,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{2,3\beta} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{5,6a\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6b\beta} = 5.1$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 93.4$  (C-1 $\alpha$ ), 92.6 (C-1 $\beta$ ), 76.8 (C-5 $\beta$ ), 73.0 (C-3 $\beta$ ), 72.8 (C-5 $\alpha$ ), 70.6 (C-3 $\alpha$ ), 67.3 (C-4 $\alpha$ ), 67.0 (C-4 $\beta$ ), 66.4 (C-2 $\beta$ ), 64.9 (C-2 $\alpha$ ), 61.3 (C-6 $\beta$ ), 61.1 (C-2 $\alpha$ ).

C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>

262.22

**N-Methansulfonyl-2-amino-2-desoxy-mannose (176)****ManNMs****Ansatz nach AAV 7b**216 mg (1.0 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl

115 mg (1.0 mmol, 1 äq) Mesylchlorid

101 mg (1.0 mmol) Et<sub>3</sub>N

8 ml DMF

Ausbeute: 170 mg (0.66 mmol, 66%) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

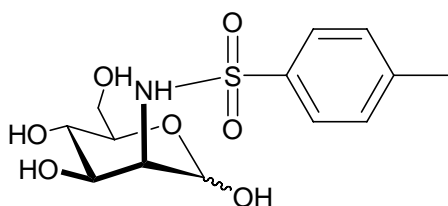
$R_f = 0.38$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 2:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.20$  (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 4.97 (d, 1 H, 1 $\beta$ -H), 3.98 (dd, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.85-3.69 (m, 8 H, 6 $\beta$ -Ha, 2 $\beta$ -H, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\alpha$ -Hb, 5 $\alpha$ -H, 3 $\beta$ -H, 6 $\alpha$ -Hb, 2 $\beta$ -H), 3.50 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.41 (dd, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.35 (ddd, 1 H, 5 $\beta$ -H), 3.14 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>), 3.11 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>);  $J_{1,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{1,2\beta} = 1.6$  Hz,  $J_{2,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5\beta} = 9.8$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 94.4$  (C-1 $\alpha$ ), 93.2 (C-1 $\beta$ ), 76.9 (C-5 $\beta$ ), 72.6 (C-5 $\alpha$ ), 72.1 (C-3 $\beta$ ), 68.8 (C-3 $\alpha$ ), 67.2 (C-4 $\alpha$ ), 67.0 (C-4 $\beta$ ), 61.1 (C-6 $\alpha$ ), 61.0 (C-6 $\beta$ ), 59.2 (C-2 $\beta$ ), 57.7 (C-2 $\alpha$ ), 42.0 (CH<sub>3</sub> $\beta$ ), 41.2 (CH<sub>3</sub> $\alpha$ ).

C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>7</sub> S

257.26

***N*-*p*-Methylphenylsulfonyl-2-amino-2-desoxy-mannose (177)****ManNTos****Ansatz nach AAV 7b**216 mg (1.0 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl

191 mg (1.0 mmol, 1 äq) Tosylchlorid

101 mg (1.0 mmol) Et<sub>3</sub>N

80 ml DMF

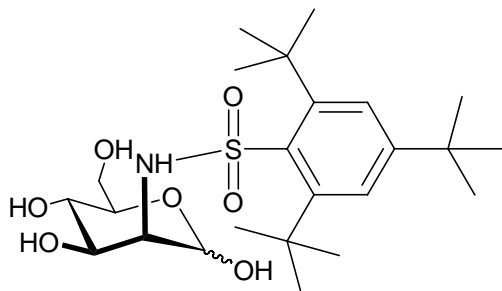
Ausbeute: 216 mg (0.65 mmol, 65%) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie  
(CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

 $R_f = 0.43$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 2:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 7.42 (d, 2 H, H<sub>ar</sub>), 7.09 (d, 2 H, H<sub>ar</sub>), 4.62 (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 4.39 (d, 1 H, 1 $\beta$ -H), 3.65 (dd, 1 H, 3 $\beta$ -H), 3.58 (dd, 1 H, 6 $\alpha$ -Ha), 3.53 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 3.51 (dd, 2 H, 6 $\beta$ -Ha, 6 $\beta$ -Hb), 3.48 (m, 2 H, 5 $\beta$ -H, 3 $\alpha$ -H), 3.41 (dd, 1 H, 6 $\alpha$ -Hb), 3.32 (dd, 1 H, 2 $\beta$ -H), 3.24 (dd, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.16 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.07 (ddd, 1 H, 5 $\alpha$ -H), 2.15 (s, 3 H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(CH<sub>3</sub>));  $J_{1,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{1,2\beta} = 1.6$  Hz,  $J_{2,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{2,3\beta} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{5,6a\alpha} = 4.6$  Hz,  $J_{5,6b\beta} = 2.4$  Hz,  $J_{5,6a\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6b\beta} = 5.1$  Hz,  $J_{6a,6b\alpha} = 11.6$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 145.5 (C<sub>ar</sub>), 136.3 (C<sub>ar</sub>), 130.5 (C<sub>ar</sub>), 127.1 (CH<sub>ar</sub>), 93.1 (C-1 $\alpha$ ), 93.0 (C-1 $\beta$ ), 76.9 (C-5 $\beta$ ), 72.4 (C-5 $\beta$ ), 72.0 (C-3 $\alpha$ ), 68.6 (C-3 $\beta$ ), 67.2 (C-4 $\beta$ ), 66.9 (C-4 $\alpha$ ), 61.0 (C-6 $\alpha$ ), 60.9 (C-6 $\beta$ ), 59.0 (C-2 $\alpha$ ), 57.5 (C-2 $\beta$ ), 21.1 (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(CH<sub>3</sub>) $\beta$ ), 20.9 (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(CH<sub>3</sub>) $\alpha$ ).

C<sub>24</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>7</sub> S      487.65

**N-2',4',6'-Triisopropylphenylsulfonyl-2-amino-2-desoxy-mannose (178)****ManNMes**Ansatz nach **AAV 7b**648 mg (3.0 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl

1.032 g (3.0 mmol, 1.0 äq) 2,4,6-Triisopropylbenzolsulfonylchlorid

303 mg (3.0 mmol) Et<sub>3</sub>N

20 ml DMF

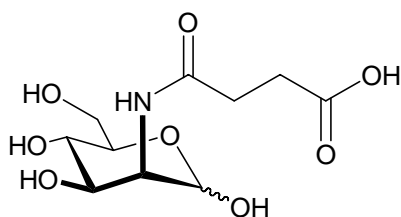
Ausbeute: 950 mg (1.95 mmol, 65%) als farbloser Feststoff nach Flash-Chromatographie  
(CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

 $R_f = 0.21$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 7.27 (s, 3 H, Har), 5.01 (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 3.91 (dd, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.82 (dd, 1 H, 6 $\alpha$ -Ha), 3.76 (dd, 1 H, 6 $\alpha$ -Hb), 3.72 (ddd, 1 H, 5 $\alpha$ -H), 3.58 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 3.54 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 1.30 (m, 27 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>);  $J_{1,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{2,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{5,6a\alpha} = 4.6$  Hz,  $J_{5,6b\beta} = 2.4$  Hz,  $J_{6a,6b\alpha} = 11.6$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 156.2 (C<sub>ar</sub>), 153.3 (C<sub>ar</sub>), 136.6 (C<sub>ar</sub>), 126.5 (CH<sub>ar</sub>), 96.0 (C-1 $\alpha$ ), 74.8 (C-5 $\alpha$ ), 71.4 (C-3 $\alpha$ ), 70.1 (C-4 $\alpha$ ), 63.8 (C-6 $\alpha$ ), 60.0 (C-2 $\alpha$ ), 26.8, 25.5 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

C<sub>24</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>7</sub> S      487.65

**N-Succinoyl-amino-2-desoxy-mannose (179)****ManNSuc****Ansatz nach AAV 7a**

50 mg (0.23 mmol) ManN·HCl

28 mg (0.28 mmol) Bernsteinsäureanhydrid

14 mg (0.25 mmol) NaOMe

32  $\mu$ l (0.23 mmol) Et<sub>3</sub>N

1.5 ml Methanol

Ausbeute: 30 mg (0.107 mmol, 38%) als farbloses Pulver

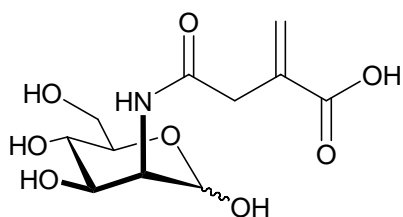
 $R_f = 0.58$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.03$  (s, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.94 (s, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 4.38 (d, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 4.24 (d, 1 H, 2 $\beta$ -H), 3.96 (dd, 1 H, 3 $\beta$ -H), 3.75 (m, 3 H, 5 $\beta$ -H, 6 $\beta$ -H), 3.75 (m, 2 H, 6 $\alpha$ -H), 3.75 (m, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.53 (t, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.43 (t, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.35 (dd, 1 H, 5 $\alpha$ -H), 2.38-2.28 (m, 2 H, 2'-Ha, 2'-Hb), 1.82 (m, 2 H, 3'-Ha, 3'-Hb);  $J_{2\alpha,3\alpha} = 4.4$  Hz,  $J_{2\beta,3\beta} = 4.7$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9$  Hz,  $J_{4\alpha,5\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{4\beta,5\beta} = 9.6$  Hz,  $J_{5\alpha,6\alpha} = 2.3$  Hz,  $J_{5\alpha,6\beta\alpha} = 5.1$  Hz,  $J_{6\alpha,6\beta\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 7.3$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 178.4$  (C-10 $\beta$ ), 178.3 (C-10 $\alpha$ ), 177.9 (C-7 $\beta$ ), 176.9 (C-7 $\alpha$ ), 93.5 (C-1 $\alpha$ ), 93.3 (C-1 $\beta$ ), 76.7 (C-5 $\beta$ ), 72.4 (C-3 $\beta$ , C-5 $\alpha$ ), 69.2 (C-3 $\alpha$ ), 67.1 (C-4 $\alpha$ ), 66.9 (C-4 $\beta$ ), 60.8 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 54.3 (C-2 $\beta$ ), 53.5 (C-2 $\alpha$ ), 35.0 (C-9 $\alpha$ , C-9 $\beta$ ), 33.2 (C-8 $\alpha$ , C-8 $\beta$ ).

C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>8</sub>

279.24

**N-Itaconoyl-2-amino-2-desoxy-mannose (180)****ManNIta****Ansatz nach AAV 7a**

216 mg (1.0 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl

169 mg (1.5 mmol, 1.5 äq) Itocansäureanhydrid

59 mg (1.1 mmol, 1.1 äq) NaOMe

101 mg (1.0 mmol, 1 äq) Et<sub>3</sub>N

5 ml Methanol

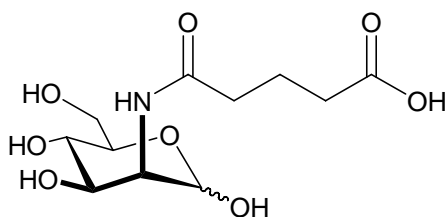
Ausbeute: 195 mg (0.67 mmol, 67%) als farbloses Pulver

$R_f = 0.61$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 6.14 (s, 1 H, 11-Ha), 6.13 (s, 1 H, 11 $\alpha$ -Ha), 5.72 (s, 1 H, 11 $\beta$ -Hb), 5.69 (s, 1 H, 11 $\alpha$ -Hb), 4.94 (s, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 4.85 (s, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.28 (dd, 1 H, 2 $\beta$ -H), 4.15 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 3.88 (dd, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.72 (dd, 1 H, 6 $\beta$ -Ha), 3.70-3.60 (m, 5 H, 5 $\alpha$ -H, 3 $\beta$ -H, 6 $\beta$ -Hb, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\alpha$ -Hb), 3.45 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.34 (dd, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.25 (m, 1 H, 5 $\beta$ -H), 3.25, 3.19 (s, d, 4 H, 8 $\alpha$ -Ha, 8 $\alpha$ -Hb, 8 $\beta$ -Ha, 8 $\beta$ -Hb);  $J_{1,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{1,2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{2,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{2,3\beta} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{5,6a\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6b\beta} = 5.1$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 175.4 (C-7 $\beta$ ), 174.6 (C-7 $\alpha$ ), 170.7 (C-10 $\beta$ ), 170.5 (C-10 $\alpha$ ), 134.5 (C-8 $\alpha$ , C-8 $\beta$ ), 130.8 (C-11 $\alpha$ ), 130.7 (C-11 $\beta$ ), 93.4 (C-1 $\alpha$ , C-1 $\beta$ ), 76.8 (C-5 $\beta$ ), 72.5 (C-3 $\beta$ , C-5 $\alpha$ ), 69.2 (C-3 $\alpha$ ), 67.2 (C-4 $\alpha$ ), 66.9 (C-4 $\beta$ ), 60.8 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 54.6 (C-2 $\beta$ ), 53.7 (C-2 $\alpha$ ), 39.1 (C-9 $\alpha$ , C-9 $\beta$ ).

C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>8</sub> 291.25

**N-Glutaryl-2-amino-2-desoxy-mannose (181)****ManNGlu****Ansatz nach AAV 7a**

432 mg (2.2 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl  
 274 mg (2.4 mmol) Glutarsäureanhydrid  
 123 mg (2.2 mmol) NaOMe  
 202 mL (2.0 mmol) Et<sub>3</sub>N  
 14 mL Methanol

Ausbeute: 760 mg (2.59 mmol, 87%) als gelber Sirup

**Ansatz nach AAV 7b**

50 mg (0.23 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl  
 37 mg (0.28 mmol) Glutarsäure  
 35 mg (0.25 mmol) Hydroxybenzotriazol  
 35 mg (0.28 mmol) DIC  
 32 µl (0.23 mmol) Et<sub>3</sub>N  
 1.5 ml DMF

Ausbeute: 36 mg (0.123 mmol, 44%) als leicht gelbliches Pulver

$R_f = 0.65$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.07 (s, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 4.98 (s, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.42 (d, 1 H, 2 $\beta$ -H), 4.29 (d, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 4.02 (dd, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.85 (dd, 1 H, 3.75 6 $\beta$ -Ha), 3.82-3.74 (m, 5 H, 5 $\alpha$ -H, 3 $\alpha$ -H, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\alpha$ -Hb, 6 $\beta$ -Hb), 3.58 (t, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.48 (t, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.38 (dd, 1 H, 5 $\beta$ -H), 2.44-2.32 (m, 8 H, 8 $\alpha$ -Ha, 8 $\alpha$ -Hb, 8 $\beta$ -Ha, 8 $\beta$ -Hb, 10 $\alpha$ -Ha, 10 $\alpha$ -Hb, 10 $\beta$ -Ha, 10 $\beta$ -Hb), 1.87 (tt, 4 H, 9 $\alpha$ -Ha, 9 $\alpha$ -Hb, 9 $\beta$ -Ha, 9 $\beta$ -Hb);  $J_{1\alpha,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{1\beta,2\beta} = 1.6$  Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha} = 4.4$  Hz,  $J_{2\beta,3\beta} = 4.7$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9$  Hz,  $J_{4\alpha,5\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{4\beta,5\beta} = 9.6$  Hz,  $J_{5\alpha,6\alpha} = 2.3$  Hz,



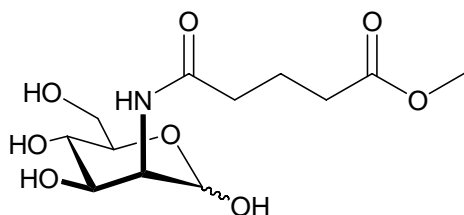
$J_{5\alpha,6\beta\alpha} = 5.1 \text{ Hz}$ ,  $J_{6\alpha\alpha,6\beta\alpha} = 9.9 \text{ Hz}$ ,  $J_{8\alpha,9\alpha} = 7.6 \text{ Hz}$ ,  $J_{8\beta,9\beta} = 7.6 \text{ Hz}$ ,  $J_{9\alpha,10\alpha} = 7.5 \text{ Hz}$ ,  $J_{9\beta,10\beta} = 7.5 \text{ Hz}$ .

**$^{13}\text{C}$ -NMR (500MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 179.4$  (C-11 $\beta$ ), 179.2 (C-11 $\alpha$ ), 178.7 (C-7 $\alpha$ ), 177.8 (C-7 $\beta$ ), 94.4 (C-1 $\alpha$ ), 94.2 (C-1 $\beta$ ), 77.7 (C-5 $\beta$ ), 73.3 (C-3 $\beta$ , C-5 $\alpha$ ), 70.0 (C-3 $\alpha$ ), 68.0 (C-4 $\alpha$ ), 67.8 (C-4 $\beta$ ), 61.7 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 55.2 (C-2 $\beta$ ), 54.4 (C-2 $\alpha$ ), 35.9 (C-10 $\beta$ ), 35.8 (C-10 $\alpha$ ), 34.1 (C-10 $\alpha$ , C-10 $\beta$ ), 21.8 (C-9 $\alpha$ , C-9 $\beta$ ).

$\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}_8$  293.27

### ***N*-Glutaryl-methylester-2-amino-2-desoxy-mannose (182)**

#### **ManNGluMe**



59 mg (0.2 mmol) *N*-Glutaryl-2-amino-2-desoxy-mannose **181** werden mit einer frischen Diazomethan-Lösung versetzt und für mehrere Stunden stehengelassen. Nach Einrotieren des Lösungsmittel und anschließender Chromatographie über Flash-Kieselgel werden 15 mg (0.05 mmol, 25%) als farbloses Feststoff erhalten.

$R_f = 0.79$  (EtOH/ $\text{NH}_3$  2:1)

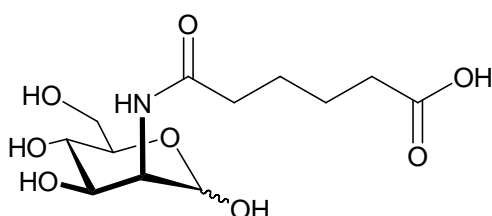
**$^1\text{H}$ -NMR (500MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 4.96$  (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 4.87 (s, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.30 (d, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 4.17 (d, 1 H, 2 $\beta$ -H), 3.90 (dd, 1 H, 3 $\beta$ -H), 3.73 (m, 3 H, 5 $\beta$ -H, 6 $\beta$ -H), 3.75 (m, 2 H, 6 $\alpha$ -H), 3.75 (m, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.53 (t, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.43 (t, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.35 (dd, 1 H, 5 $\alpha$ -H), 2.27-2.38 (m, 4 H, 2'-Ha, 2'-Hb, 4'-Ha, 4'-Hb), 1.82 (m, 2 H, 3'-Ha, 3'-Hb);  $J_{1\alpha,2\alpha} = 1.5 \text{ Hz}$ ,  $J_{1\beta,2\beta} = 1.6 \text{ Hz}$ ,  $J_{2\alpha,3\alpha} = 4.4 \text{ Hz}$ ,  $J_{2\beta,3\beta} = 4.7 \text{ Hz}$ ,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.8 \text{ Hz}$ ,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9 \text{ Hz}$ ,  $J_{4\alpha,5\alpha} = 9.8 \text{ Hz}$ ,  $J_{4\beta,5\beta} = 9.6 \text{ Hz}$ ,  $J_{5\alpha,6\alpha} = 2.3 \text{ Hz}$ ,  $J_{5\alpha,6\beta\alpha} = 5.1 \text{ Hz}$ ,  $J_{6\alpha\alpha,6\beta\alpha} = 9.9 \text{ Hz}$ ,  $J_{2',3'} = 7.3 \text{ Hz}$ ,  $J_{3',4'} = 7.3 \text{ Hz}$ .

**$^{13}\text{C}$ -NMR (500MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 177.9$  (C-11 $\beta$ ), 177.1 (C-11 $\alpha$ ), 176.9 (C-7 $\alpha$ , C-7 $\beta$ ), 93.5 (C-1 $\alpha$ ), 93.3 (C-1 $\beta$ ), 76.7 (C-5 $\beta$ ), 72.4 (C-3 $\beta$ , C-5 $\alpha$ ), 69.2 (C-3 $\alpha$ ), 67.2 (C-4 $\alpha$ ), 66.9 (C-4 $\beta$ ), 60.8 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 54.4 (C-2 $\beta$ ), 53.5 (C-2 $\alpha$ ), 52.6 (C-12 $\alpha$ , C-12 $\beta$ ), 35.1 (C-10 $\beta$ ), 35.0 (C-10 $\alpha$ ), 33.2 (C-10 $\alpha$ , C-10 $\beta$ ), 21.0 (C-9 $\alpha$ , C-9 $\beta$ ).

$\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NO}_8$  307.30

### ***N*-Adipoyl-2-amino-2-desoxy-mannose (183)**

#### **ManNAdip**



#### **Ansatz nach AAV 7a**

50 mg (0.23 mmol)  $\text{ManNH}_2\cdot\text{HCl}$   
51 mg (0.28 mmol) Adipinsäuredichlorid  
14 mg (0.25 mmol)  $\text{NaOMe}$   
32  $\mu\text{l}$  (0.23 mmol)  $\text{Et}_3\text{N}$   
1.5 ml Methanol

Ausbeute: 10 mg (33  $\mu\text{mol}$ , 9%) als farbloses Pulver

#### **Ansatz nach AAV 7b**

50 mg (0.23 mmol)  $\text{ManNH}_2\cdot\text{HCl}$   
41 mg (0.28 mmol) Adipinsäure  
35 mg (0.25 mmol) Hydroxybenzotriazol  
35 mg (0.28 mmol) DIC  
32  $\mu\text{l}$  (0.23 mmol)  $\text{Et}_3\text{N}$   
1.5 ml DMF

Ausbeute: 25 mg (82  $\mu\text{mol}$ , 30%) als leicht gelbliches Pulver

$R_f = 0.71$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

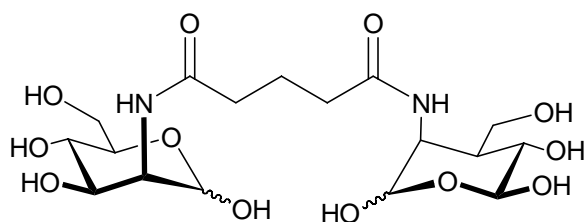
**$^1\text{H-NMR}$  (500MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.05 (s, 1 H, H-1 $\beta$ ), 4.97 (s, 1 H, H-1 $\alpha$ ), 4.40 (d, 1 H, H-2 $\alpha$ ), 4.27 (d, 1 H, H-2 $\beta$ ), 4.01 (dd, 1 H, H-3 $\beta$ ), 3.79 (m, 2 H, H-5 $\beta$ , H-6 $\beta$ ), 3.79 (m, 1 H, H-6 $\alpha$ ), 3.79 (m, 1 H, H-3 $\alpha$ ), 3.57 (t, 1 H, H-4 $\beta$ ), 3.47 (t, 1 H, H-4 $\alpha$ ), 3.35 (dd, 1 H, H-5 $\alpha$ ), 2.35 (t, 2 H, H-2'), 2.29 (t, 2 H, H-5'), 1.58 (m, 4 H, H-4', H-3');  $J_{2,3\alpha} = 4.4$  Hz,  $J_{2,3\beta} = 4.7$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{3,4\beta} = 9.9$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5\beta} = 9.6$  Hz,  $J_{5,6\alpha} = 5.1$  Hz,  $J_{5,6\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{6\alpha,6\beta} = 9.9$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (500MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 179.1 (C-6' $\beta$ ), 179.0 (C-6' $\alpha$ ), 178.6 (C-1' $\beta$ ), 177.7 (C-1' $\alpha$ ), 93.6 (C-1 $\alpha$ ), 93.4 (C-1 $\beta$ ), 76.7 (C-5 $\beta$ ), 72.4 (C-3 $\beta$ , C-5 $\alpha$ ), 69.2 (C-3 $\alpha$ ), 67.1 (C-4 $\alpha$ ), 66.9 (C-4 $\beta$ ), 60.8 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 54.3 (C-2 $\beta$ ), 53.5 (C-2 $\alpha$ ), 35.6 (C-5'), 33.8 (C-2'), 25.1 (C-4'), 24.1 (C-3').

$\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NO}_8$  307.3

### $N^1, N^5$ -Bis-(2-desoxy-mannos-2-yl)-glutaramid (184)

#### DiManNGlu



#### Ansatz nach AAV 7a

50 mg (0.23 mmol)  $\text{ManNH}_2 \cdot \text{HCl}$   
 14 mg (0.12 mmol) Glutarsäureanhydrid  
 14 mg (0.25 mmol)  $\text{NaOMe}$   
 32  $\mu\text{l}$  (0.23 mmol)  $\text{Et}_3\text{N}$   
 1.5 ml Methanol

Ausbeute: 40 mg (0.088 mmol, 74%) als farbloses Pulver

#### Ansatz nach AAV 7b

50 mg (0.23 mmol)  $\text{ManNH}_2 \cdot \text{HCl}$

15 mg (0.12 mmol) Glutarsäure  
35 mg (0.25 mmol) Hydroxybenzotriazol  
35 mg (0.28 mmol) DIC  
32  $\mu$ l (0.23 mmol) Et<sub>3</sub>N  
1.5 ml DMF

Ausbeute: 28 mg (0.061 mmol, 52%) als farbloses Pulver

#### Ansatz nach **AAV 7b**

160 mg (0.74 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl  
215 mg (0.74 mmol) 2-Glutaryl-amido-2-desoxy-mannopyranosid **181**  
110 mg (0.81 mmol) Hydroxybenzotriazol  
110 mg (0.88 mmol) DIC  
100  $\mu$ l (0.74 mmol) Et<sub>3</sub>N  
5 ml DMF

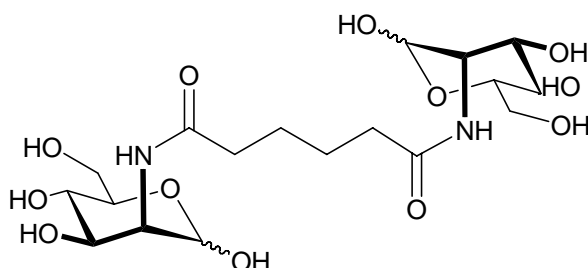
Ausbeute: 262 mg (0.576 mmol, 79%) als leicht gelbliches Pulver

$R_f = 0.47$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.06$  (s, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 4.96 (s, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.40 (d, 1 H, 2 $\beta$ -H), 4.27 (d, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 3.98 (dd, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.78 (m, 4 H, 5 $\alpha$ -H, 3-H $\beta$ , 6 $\beta$ -Ha, 6 $\beta$ -Hb), 3.75 (m, 2 H, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\alpha$ -Hb), 3.56 (t, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.46 (t, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.35 (dd, 1 H, 5 $\alpha$ -H), 2.29-2.37 (m, 4 H, 8-Ha, 8-Hb, 10-Ha, 10-Hb), 1.82 (m, 2 H, 9-Ha, 9-Hb);  $J_{2\alpha,3\alpha} = 4.4$  Hz,  $J_{2\beta,3\beta} = 4.7$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9$  Hz,  $J_{4\alpha,5\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{4\beta,5\beta} = 9.6$  Hz,  $J_{5\alpha,6\alpha} = 2.3$  Hz,  $J_{5\alpha,6\beta\alpha} = 5.1$  Hz,  $J_{6\alpha\alpha,6\beta\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{8,9} = 7.3$  Hz,  $J_{9,10} = 7.3$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 177.0$  (C-7 $\beta$ , C-7 $\alpha$ ), 93.5 (C-1 $\alpha$ ), 93.4 (C-1 $\beta$ ), 76.8 (C-5 $\beta$ ), 72.4 (C-3 $\beta$ , C-5 $\alpha$ ), 69.2 (C-3 $\alpha$ ), 67.2 (C-4 $\alpha$ ), 66.9 (C-4 $\beta$ ), 60.8 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 54.4 (C-2 $\beta$ ), 53.6 (C-2 $\alpha$ ), 35.1 (C-10), 31.8 (C-8), 22.0 (C-9).

C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub> 454.43

***N*<sup>1</sup>,*N*<sup>5</sup>-Bis-(2-desoxy-mannos-2-yl)-adipinamid (185)****DiManNAdip****Ansatz nach AAV 7a**50 mg (0.23 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl

22 mg (0.12 mmol) Adipinsäuredichlorid

14 mg (0.25 mmol) NaOMe

32 µl (0.23 mmol) Et<sub>3</sub>N

1.5 ml Methanol

Ausbeute: 18 mg (38 µmol, 32%) als farbloses Pulver

**Ansatz nach AAV 7b**200 mg (0.92 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl

68 mg (0.46 mmol) Adipinsäure

140 mg (1.00 mmol) Hydroxybenzotriazol

140 mg (1.12 mmol) DIC

128 µl (0.92 mmol) Et<sub>3</sub>N

6 ml DMF

Ausbeute: 90 mg (0.192 mmol, 42%) als farbloses Pulver

 $R_f = 0.51$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

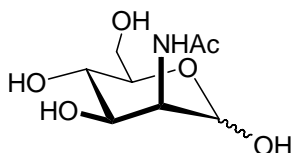
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta =$  5.05 (s, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.97 (s, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 4.40 (d, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 4.28 (d, 1 H, 2 $\beta$ -H), 4.00 (dd, 1 H, 3 $\beta$ -H), 3.79 (m, 3 H, 5 $\beta$ -H, 6 $\beta$ -H), 3.79 (m, 2 H, 6 $\alpha$ -H), 3.79 (m, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 3.57 (t, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.46 (t, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.35 (dd, 1 H, 5 $\alpha$ -H), 2.30 (m, 8 H, 2'-Ha, 2'-Hb, 5'-Ha, 5'-Hb), 1.59 (m, 8 H, 3'-Ha, 3'-Hb, 4'-Ha, 4'-Hb);  $J_{2\alpha,3\alpha} = 4.4$  Hz,

$J_{2\beta,3\beta} = 4.7$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9$  Hz,  $J_{4\alpha,5\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{4\beta,5\beta} = 9.6$  Hz,  $J_{5\alpha,6\alpha} = 2.3$  Hz,  $J_{5\alpha,6\beta\alpha} = 5.1$  Hz,  $J_{6\alpha\alpha,6\beta\alpha} = 9.9$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (500MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 179.1$  (C-1', C-6'), 93.6 (C-1), 93.4 (C-1), 76.7 (C-5), 72.4 (C-5), 69.2 (C-3), 67.1 (C-3), 66.9 (C-4), 60.8 (C-6), 54.3 (C-2), 53.5 (C-2), 35.6 (C-2', C-5'), 25.2 (C-3', C-4').

$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_{12}$  468.2

### 2-Acetamido-2-desoxy-D-mannose (186)



40 g (181 mmol) GlcNAc werden in 100 mL gelöst, mit 2 N NaOH auf pH 11.0 eingestellt und für 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird über Ionentauscher ( $\text{H}^+$ -Form,  $\text{HCO}_3^-$ -Form) filtriert, bis zur Trockene eingengt und aus EtOH umkristallisiert. Hierbei geht ManNAc in Lösung. Das zurückbleibende GlcNAc wird abgesaugt und die Mutterlauge in Kälte stehen gelassen. Weiter ausfallendes GlcNAc wird abgesaugt und man erhält 4 g (18.1 mmol, 10%) ManNAc mit einer Reinheit von ca. 90%.

$R_f = 0.13$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  5:1)

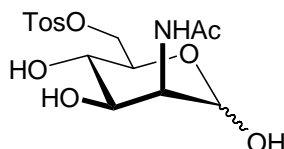
$\alpha/\beta$  1:1.5

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 5.07$  (d, 1 H, 1-H $\alpha$ ), 4.98 (d, 1 H, 1-H $\beta$ ), 4.49 (dd, 1 H, 2-H $\beta$ ), 4.27 (dd, 1 H, 2-H $\alpha$ ), 4.01 (dd, 1 H, 3-H $\alpha$ ), 3.84 (dd, 2 H, 6-H $\alpha\alpha$ , 6-H $\alpha\beta$ ), 3.80 (m, 5-H $\alpha$ ), 3.78 (dd, 1 H, 3-H $\beta$ ), 3.76 (dd, 2 H, 6-H $\beta\alpha$ , 6-H $\beta\beta$ ), 3.58 (dd, 1 H, 4-H $\alpha$ ), 3.48 (dd, 1 H, 4-H $\beta$ ), 3.37 (dd, 1 H, 5-H $\beta$ ), 2.05 (s, 3 H,  $\text{NHCOCH}_3\beta$ ), 2.00 (s, 3 H,  $\text{NHCOCH}_3\alpha$ );  $J_{1\alpha,2\alpha} = 1.5$  Hz,  $J_{1\beta,2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{2\beta,3\beta} = 4.5$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9$  Hz,  $J_{4\alpha,5\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{4\beta,5\beta} = 9.9$  Hz,  $J_{5\beta,6\alpha\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{5\beta,6\beta} = 5.0$  Hz,  $J_{6\alpha\beta,6\beta\beta} = 12.3$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 176.1 (NHAc $\beta$ ), 175.2 (NHAc $\alpha$ ), 93.5 (C-1 $\alpha$ ), 93.4 (C-1 $\beta$ ), 76.7 (C-5 $\beta$ ), 72.5, 72.4 (C-5 $\alpha$ , C-3 $\beta$ ), 69.2 (C-3 $\alpha$ ), 67.2 (C-4 $\alpha$ ), 66.9 (C-4 $\beta$ ), 60.8 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 54.5 (C-2 $\beta$ ), 53.6 (C-2 $\alpha$ ), 22.4 (NHAc $\beta$ ), 22.3 (NHAc $\alpha$ ).

$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_6$  221.21

## 2-Acetamido-2-desoxy-6-O-tosyl-D-mannose (187)



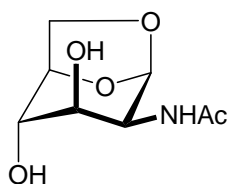
1 g (4.52 mmol) ManNAc **186** in 15 mL Pyridin werden bei 0°C portionsweise mit einer Lösung aus 2.153 g (11.3 mmol, 2.5 Äq.) TosCl in 15 mL Pyridin versetzt und über Nacht bei 0°C gerührt. Anschließend wird für 24 h bei Raumtemperatur gerührt, die Lösung eingeeengt und das erhaltene Rohprodukt über Flash-Kieselgel ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  10:1) aufgereinigt. Neben 289 mg zurückgewonnenen ManNAc werden 800 mg (2.13 mmol) des gewünschten Produkts in 47% Ausbeute als gelber Sirup erhalten.

$R_f$  = 0.39 ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  2:1)

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 7.62 (m, 2 H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 7.28 (m 2 H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 4.83(d, 1 H, 1-H $\alpha$ ), 4.77(d, 1 H, 1-H $\beta$ ), 4.24(dd, 1 H, 2-H $\beta$ ), 4.20-4.10 (m, 4 H, 6-Ha $\alpha$ , 6-Ha $\beta$ , 6-Hb $\alpha$ , 6-Hb $\beta$ ), 4.07 (dd, 1 H, 2-H $\alpha$ ), 3.80 (dd, 1 H, 3-H $\alpha$ ), 3.75 (ddd, 5-H $\alpha$ ), 3.58 (dd, 1 H, 3-H $\beta$ ), 3.40 (dd, 1 H, 4-H $\alpha$ ), 3.34 (ddd, 1 H, 5-H $\beta$ ), 3.27 (dd, 1 H, 4-H $\alpha$ ), 1.89 (s, 3 H, NHAc $\beta$ ), 1.85 (s, 3 H, NHAc $\alpha$ );  $J_{1\alpha,2\alpha}$  = 1.5 Hz,  $J_{1\beta,2\beta}$  = 1.7 Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha}$  = 4.7 Hz,  $J_{2\beta,3\beta}$  = 4.5 Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha}$  = 9.8 Hz,  $J_{3\beta,4\beta}$  = 9.9 Hz,  $J_{4\alpha,5\alpha}$  = 9.8 Hz,  $J_{4\beta,5\beta}$  = 9.9 Hz,  $J_{5\beta,6a\beta}$  = 2.3 Hz,  $J_{5\beta,6b}$  = 5.0 Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 176.1 (NHAc $\beta$ ), 175.2 (NHAc $\alpha$ ), 147.2 ( $\text{C}_{ar}$ ), 130.9 ( $\text{C}_{ar}$ ), 130.7 ( $\text{C}_{ar}$ ), 128.3 ( $\text{C}_{ar}$ ), 93.5 (C-1 $\alpha$ ), 93.4 (C-1 $\beta$ ), 74.0 (C-5 $\beta$ ), 72.2 (C-3 $\beta$ ), 70.2 (C-5 $\alpha$ ), 69.9 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 68.9 (C-3 $\alpha$ ), 66.9 (C-4 $\alpha$ ), 66.7 (C-4 $\beta$ ), 54.2 (C-2 $\beta$ ), 53.6 (C-2 $\alpha$ ), 22.5 (NHAc $\beta$ ), 22.3 (NHAc $\alpha$ ).

$\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_8\text{S}$  375.39

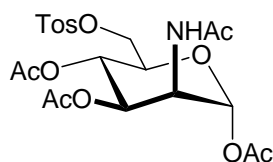
**1,6-Anhydro-2-acetamido-2-desoxy- $\alpha$ -D-mannose (188)**

70 mg (0.19 mmol) an **187** werden in 5 mL DMF gelöst, mit 29 mg (0.57 mmol, 3 eq.)  $\text{LiN}_3$  versetzt und für 18 bei 65°C erwärmt. Nach vollständigem Umsatz wird der Rückstand eingeeengt und über Kieselgel ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  10:1) aufgereinigt. Anstatt der erwarteten 6-Azido-Verbindung werden 24 mg (0.1 mmol, 51%) des 1,6-Anhydrids als farbloser Sirup erhalten.

$R_f = 0.39$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  5:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 5.34$  (s, 1 H, 1-H), 4.57 (m, 1 H, 5-H), 4.20 (dd, 1 H, 6-Ha), 4.00 (dd, 1 H, 2-H), 3.88 (ddd, 1 H, 3-H), 3.85 (dd, 1 H, 4-H), 3.71 (dd, 1 H, 6-Hb), 2.02 (s, 3 H, NHAc);  $J_{1,2} = 1.7$  Hz,  $J_{2,3} = 5.3$  Hz,  $J_{3,4} = 1.8$  Hz,  $J_{4,5} = 2.8$  Hz,  $J_{5,6a} = 1.0$  Hz,  $J_{5,6b} = 5.9$  Hz,  $J_{6a,6b} = 7.7$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 173.0$  (NHAc), 98.8 (C-1), 74.6 (C-5), 70.0 (C-4), 67.5 (C-3), 63.6 (C-6), 47.5 (C-2), 20.7 (NHAc).

**2-Acetamido-1,3,4-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-6-*O*-tosyl- $\alpha$ -D-mannose (189)**

10.74 g (48.6 mmol) ManNAc **186** werden in 250 mL Pyridin gelöst und langsam bei 0°C mit einer Lösung von 14.03 g (72.9 mmol, 1.5 äq)  $\text{TosCl}$  in 100 mL Pyridin versetzt. Man rührt die Lösung über Nacht bei 0°C, versetzt mit weiteren 4.67 g (24.3 mmol, 0.5 äq)  $\text{TosCl}$  und rührt anschließend bei Raumtemperatur für weitere 24 h, bis vollständiger Umsatz von ManNAc zum Tosylat zu beobachten ist. Es wird mit 292 mmol (2 äq/OH-Gruppe)  $\text{Ac}_2\text{O}$  versetzt und bis zum vollständigen Umsatz bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösemittel wird



im Vakuum eingengt, mit Toluol mehrmals koevapoziert und der Rückstand säulenchromatographisch aufgereinigt (AcOEt/Cyclohexan 2:1). 7.34 g (14.65 mmol, 30%) eines gelben Sirups werden erhalten.

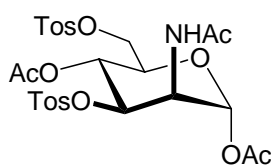
$R_f = 0.36$  (AcOEt/Cyclohexan 2:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 7.72$  (m, 2 H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 7.28 (m 2 H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 6.01 (d, 1 H, NH), 5.93 (d, 1 H, 1-H), 5.24 (d, 1 H, 3-H), 5.18 (dd, 1 H, 4-H), 4.54 (ddd, 1 H, 2-H), 4.21 (dd, 1 H, 6-Ha), 4.02 (m, 1 H, 6-Hb), 3.96 (ddd, 1 H, 5-H) 2.07, 1.97, 1.93, 1.92 (s, 12 H,  $\text{NHCOCH}_3$ ,  $\text{COCH}_3$ );  $J_{1,2} = 1.8$  Hz,  $J_{2,3} = 4.5$  Hz,  $J_{\text{NH},2} = 9.2$  Hz,  $J_{3,4} = 10.2$  Hz,  $J_{4,5} = 10.2$  Hz,  $J_{5,6a} = 2.8$  Hz,  $J_{5,6b} = 4.9$  Hz,  $J_{6a,6b} = 13.5$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 170.7$ -168.4 ( $\text{NHCOCH}_3$ ,  $\text{COCH}_3$ ), 145.6, 133.1, 130.3, 128.4 ( $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 92.0 (C-1), 70.5 (C-5), 69.2 (C-3), 67.9 (C-6), 65.7 (C-4), 49.5 (C-2), 23.6 ( $\text{NHCOCH}_3$ ), 22.0-20.7 ( $\text{COCH}_3$ ).

$\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{NO}_{11}\text{S}$       501.05

## 2-Acetamido-1,4-di-O-acetyl-2-desoxy-3,6-di-O-tosyl- $\alpha$ -D-mannose (190)



1.06 g (1.63 mmol, 3%) eines gelben Sirups als Nebenprodukt aus Ansatz von ManNac **186**, TosCl und  $\text{Ac}_2\text{O}$  nach Chromatographie an Kieselgel (AcOEt/Cyclohexan 2:1).

$R_f = 0.38$  (AcOEt/Cyclohexan 2:1)

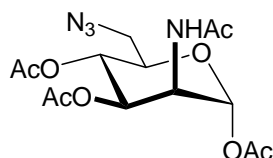
**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 7.70$  (m, 4 H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 7.26 (m, 4 H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 6.13 (d, 1 H, NH), 5.87 (d, 1 H, 1-H), 5.18 (d, 1 H, 4-H), 4.97 (dd, 1 H, 3-H), 4.43 (ddd, 1 H, 2-H), 4.19 (dd, 1 H, 6-Ha), 4.00 (dd, 1 H, 6-Hb), 3.94 (ddd, 1 H, 5-H) 2.05, 1.96, 1.87 (s, 12 H,

NHCOCH<sub>3</sub>, COCH<sub>3</sub>);  $J_{1,2} = 2.1$  Hz,  $J_{2,3} = 4.6$  Hz,  $J_{\text{NH},2} = 9.2$  Hz,  $J_{3,4} = 9.7$  Hz,  $J_{4,5} = 9.7$  Hz,  $J_{5,6a} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6b} = 4.1$  Hz,  $J_{6a,6b} = 11.6$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 170.6$ - $168.2$  (NHCOCH<sub>3</sub>, COCH<sub>3</sub>), 145.8, 145.6, 133.4, 133.0, 130.3, 128.4 (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 91.9 (C-1), 72.5 (C-3), 70.5 (C-3), 67.8 (C-6), 65.4 (C-4), 50.4 (C-2), 23.4 (NHCOCH<sub>3</sub>), 22.1-21.0 (COCH<sub>3</sub>).

C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>6</sub>S<sub>2</sub>      613.65

### 2-Acetamido-1,3,4-tri-*O*-acetyl-6-azido-2-desoxy- $\alpha$ -D-mannose (191)

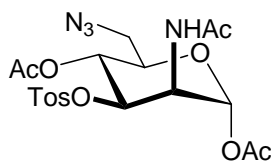


6.29 g (12.6 mmol) des Tosylats **189** werden in 200 mL DMSO gelöst, mit 4.08 g (62.8 mmol, 5 äq) NaN<sub>3</sub> versetzt und für 24 h bei 55°C gerührt. Nach vollständigem Umsatz wird auf Raumtemperatur abgekühlt, mit 400 mL Wasser verdünnt und mit Chloroform gewaschen (3x 100 mL), die organischen Phasen vereinigt, mit Wasser gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösemittel im Vakuum eingengt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (AcOEt/Cyclohexan 2:1) werden 3.52 g (9.45 mmol, 75%) des Produkts als gelber Sirup erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 5.98$  (d, 1 H, 1-H), 5.74 (d, 1 H, NH), 5.27 (d, 1 H, 3-H), 5.12 (dd, 1 H, 4-H), 4.57 (ddd, 1 H, 2-H), 3.91 (ddd, 1 H, 5-H), 3.38 (dd, 1 H, 6-Ha), 3.25 (dd, 1 H, 6-Hb) 2.11, 2.01, 1.94 (s, 12 H, NHCOCH<sub>3</sub>, COCH<sub>3</sub>);  $J_{1,2} = 1.8$  Hz,  $J_{2,3} = 4.5$  Hz,  $J_{\text{NH},2} = 9.2$  Hz,  $J_{3,4} = 10.2$  Hz,  $J_{4,5} = 10.2$  Hz,  $J_{5,6a} = 2.8$  Hz,  $J_{5,6b} = 4.9$  Hz,  $J_{6a,6b} = 13.5$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta = 170.5$ - $168.5$  (NHCOCH<sub>3</sub>, COCH<sub>3</sub>), 92.0 (C-1), 71.5 (C-5), 69.1 (C-3), 66.7 (C-4), 51.1 (C-6), 49.6 (C-2), 23.6 (NHCOCH<sub>3</sub>), 21.4-21.0 (COCH<sub>3</sub>).

C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>      372.33

**2-Acetamido-1,4-di-O-acetyl-6-azido-2-desoxy-3-O-tosyl- $\alpha$ -D-mannose (192)**

1.0 g (1.63 mmol) des Ditosylats **190** werden in 30 mL DMSO gelöst, mit 1.06 g (16.3 mmol, 10 äq) NaN<sub>3</sub> versetzt und für 24 h bei 55°C gerührt. Nach vollständigem Umsatz wird auf Raumtemperatur abgekühlt, mit 100 mL Wasser verdünnt und mit Chloroform gewaschen (3x 30 mL), die organischen Phasen vereinigt, mit Wasser gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösemittel im Vakuum eingeengt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (AcOEt/Cyclohexan 2:1) werden 500 mg (1.03 mmol, 63%) des Produkts als gelber Sirup erhalten.

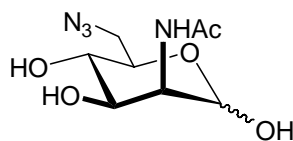
$R_f = 0.44$  (AcOEt/Cyclohexan 4:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 7.70 (m, 2 H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7.26 (m, 2 H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 5.95 (d, 1 H, 1-H), 5.95 (d, 1 H, NH), 5.12 (d, 1 H, 4-H), 5.00 (dd, 1 H, 3-H), 4.44 (ddd, 1 H, 2-H), 3.87 (ddd, 1 H, 5-H), 3.34 (dd, 1 H, 6-Ha), 3.24 (dd, 1 H, 6-Hb) 2.08, 2.02, 1.87 (s, 9 H, NHCOCH<sub>3</sub>, COCH<sub>3</sub>);  $J_{1,2} = 1.8$  Hz,  $J_{2,3} = 4.5$  Hz,  $J_{\text{NH},2} = 9.2$  Hz,  $J_{3,4} = 10.2$  Hz,  $J_{4,5} = 10.2$  Hz,  $J_{5,6a} = 2.8$  Hz,  $J_{5,6b} = 4.9$  Hz,  $J_{6a,6b} = 13.5$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 171.6-168.4 (NHCOCH<sub>3</sub>, COCH<sub>3</sub>), 145.9, 133.5, 130.3, 128.4 (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 91.9 (C-1), 75.3 (C-3), 71.5 (C-5), 66.5 (C-4), 51.0 (C-6), 50.4 (C-2), 23.5 (NHCOCH<sub>3</sub>), 22.1-21.1 (COCH<sub>3</sub>).

C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>S

484.48

**2-Acetamido-6-azido-2-desoxy-D-mannose (193)**

Entschüttung von **191** nach **AAV 5**

Ansatz: 500 mg (1.34 mmol) **191**

Ausbeute: 268 mg (1.21 mmol, 92 %) **193** als gelber Sirup

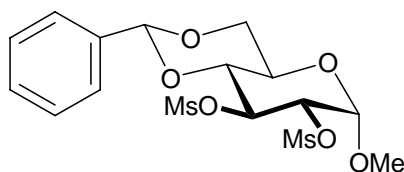
$R_f = 0.41$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  5:1)

$\alpha/\beta$  1.3:1

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 5.08$  (d, 1 H, 1- $\text{H}\alpha$ ), 4.98 (d, 1 H, 1- $\text{H}\beta$ ), 4.41 (dd, 1 H, 2- $\text{H}\beta$ ), 4.25 (dd, 1 H, 2- $\text{H}\alpha$ ), 3.99 (dd, 1 H, 3- $\text{H}\alpha$ ), 3.93 (ddd, 5- $\text{H}\alpha$ ), 3.77 (dd, 1 H, 3- $\text{H}\beta$ ), 3.68-3.53 (m, 3 H, 4- $\text{H}\alpha$ , 6- $\text{H}\alpha$ , 6- $\text{H}\beta$ ), 3.46 (m, 2 H, 4- $\text{H}\beta$ , 5- $\text{H}\beta$ ), 2.05 (s, 3 H,  $\text{NHCOCH}_3\beta$ ), 2.01 (s, 3 H,  $\text{NHCOCH}_3\alpha$ );  $J_{1\alpha,2\alpha} = 1.4$  Hz,  $J_{1\beta,2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{2\beta,3\beta} = 4.5$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9$  Hz,  $J_{4\alpha,5\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{4\beta,5\beta} = 9.9$  Hz,  $J_{5\beta,6\alpha\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{5\beta,6\beta} = 5.0$  Hz,  $J_{6\alpha\beta,6\beta\beta} = 12.3$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 174.1$  ( $\text{NHAc}\beta$ ), 173.2 ( $\text{NHAc}\alpha$ ), 91.4 (C-1 $\alpha$ , C-1 $\beta$ ), 73.2 (C-5 $\beta$ ), 70.1 (C-3 $\beta$ ), 68.9 (C-5 $\alpha$ ), 66.8 (C-3 $\alpha$ ), 66.1 (C-4 $\alpha$ ), 65.9 (C-4 $\beta$ ), 52.3 (C-2 $\beta$ ), 51.6 (C-2 $\alpha$ ), 49.3 (C-6 $\alpha$ ), 49.2 (C-6 $\beta$ ), 20.4 ( $\text{NHAc}\beta$ ), 20.3 ( $\text{NHAc}\alpha$ ).

$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_6$  221.21

**Methyl-4,6-*O*-benzyliden-2,3-di-*O*-mesyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (195)**

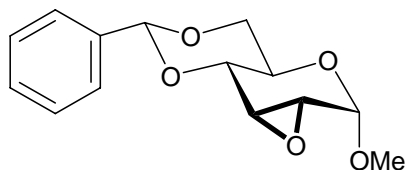
35 g (124 mmol) Methyl-4,6-*O*-benzyliden- $\alpha$ -D-glucopyranosid **194** werden in 90 mL Pyridin gelöst und auf 0°C abgekühlt. Zu der kalten Lösung wird langsam 35 mL MsCl zugegeben, wobei feine farblose Kristalle ausfallen. Nach beendeter Zugabe wird über Nacht im Kühlschrank stehen gelassen. Die ausgefallenen Kristalle werden abfiltriert, mit kaltem Pyridin gewaschen und anschließend aus Chloroform umkristallisiert. 31.5 g (71.9 mmol, 58%) eines farblosen kristallinen Feststoffs werden erhalten.

$R_f = 0.78$  (AcOEt)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 7.38\text{--}7.39$  (m, 5 H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 5.49 (s, 1 H, 7-H), 5.01 (dd, 1 H, 3-H), 4.96 (d, 1 H, 1-H), 4.56 (dd, 1 H, 2-H), 4.27 (dd, 1 H, 4-H), 3.87 (ddd, 1 H, 5-H), 3.69 (ddd, 1 H, 5-H), 3.72 (dd, 1 H, 6-Hb), 3.68 (dd, 1 H, 4-H), 3.42 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.10, 2.90 (s, 6 H, Ms);  $J_{1,2} = 3.7$  Hz,  $J_{2,3} = 9.6$  Hz,  $J_{3,4} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $J_{5,6a} = 4.9$  Hz,  $J_{5,6b} = 7.0$  Hz,  $J_{6a,6b} = 10.4$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 141.8\text{--}126.5$  ( $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 102.5 (C-7), 99.3 (C-1), 79.5 (C-4), 77.5 (C-3), 76.2 (C-2), 69.1 (C-6), 62.7 (C-5), 56.5 ( $\text{OCH}_3$ ), 39.4, 39.2 (Ms).

$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_{10}\text{S}_2$  438.47

**Methyl-2,3-anhydro-4,6-O-benzyliden- $\alpha$ -D-allopyranosid (196)**

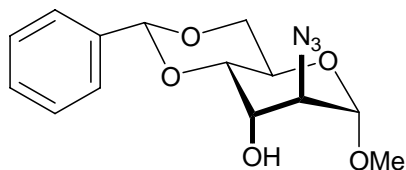
31.5 g (71.9 mmol) des Diemesylats **195** werden unter Rühren zu einer Lösung aus 5.7 g Natrium in 525 mL Ethanol gegeben. Nach dem sich der Feststoff gelöst hat, wird für 1 h unter Rückfluß erhitzt, wobei sich die Lösung braun färbt. Man kühlt auf Raumtemperatur ab und lagert die Lösung über Nacht im Kühlschrank. Die ausgefallene Kristalle werden abgesaugt und mit kaltem Wasser, anschließend kaltem Ethanol nachgewaschen. Das erhaltene Rohprodukt wird aus  $\text{CHCl}_3/\text{Et}_2\text{O}$  umkristallisiert. Weiteres Einengen der Mutterlauge sowie eine wiederholte Umkristallisation ergeben 9.41 g (35.6 mmol, 50%) des sehr reinen Epoxids.

$R_f = 0.49$  (AcOEt)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 7.42\text{--}7.28$  (m, 5 H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 5.49 (s, 1 H, 7-H), 4.81 (d, 1 H, 1-H), 4.16 (d, 1 H, 6-Ha), 4.03 (ddd, 1 H, 5-H), 3.87 (dd, 1 H, 4-H), 3.61 (dd, 1 H, 6-Hb), 3.44 (m, 1 H, 3-H), 3.41 (dd, 1 H, 2-H), 3.90 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ );  $J_{1,2} = 2.8$  Hz,  $J_{2,3} = 4.3$  Hz,  $J_{3,4} = 1.2$  Hz,  $J_{4,5} = 9.3$  Hz,  $J_{5,6a} = 5.0$  Hz,  $J_{5,6b} = 7.1$  Hz,  $J_{6a,6b} = 10.3$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 137.6\text{--}126.7$  ( $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 103.2 (C-7), 95.7 (C-1), 78.3 (C-4), 69.3 (C-6), 60.5 (C-5), 56.3 ( $\text{OCH}_3$ ), 53.5 (C-2), 51.1 (C-2).

$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{O}_5$       264.27

**Methyl-2-azido-4,6-O-benzyliden-2-desoxy- $\alpha$ -D-altropyranosid (197)**

9.41 g (35.6 mmol) Epoxid **196**, gelöst in 120 mL heißem Ethanol, werden mit einer Lösung von 10 g Natriumazid und 10 g Ammoniumchlorid in 30 mL Wasser versetzt. Man erhitzt das Reaktionsgemisch für 22 h unter Rückfluß. Nach Abkühlen wird die Lösung mit weiteren 200 mL Wasser verdünnt, wobei der ausfallende Feststoff filtriert und mit Wasser nachgewaschen wird. Umkristallisation aus Ether-Petroleum ergeben 9.3 g (30.3 mmol, 85%) des Produkts als farblose Plättchen.

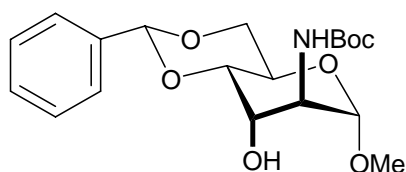
$R_f = 0.31$  (AcOEt/Cyclohexan 1:2)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 7.44\text{--}7.26$  (m, 5 H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 5.55 (s, 1 H, 7-H), 4.71 (d, 1 H, NH), 4.63 (s, 1 H, 1-H), 4.25 (dd, 1 H, 6-Ha), 4.12 (ddd, 1 H, 5-H), 4.07 (m, 1 H, 3-H), 3.81 (ddd, 1 H, 2-H), 3.78 (dd, 1 H, 4-H), 3.72 (dd, 1 H, 4-H), 3.37 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ );  $J_{3,4} = 2.9$  Hz,  $J_{4,5} = 9.8$  Hz,  $J_{5,6a} = 4.4$  Hz,  $J_{5,6b} = 9.9$  Hz,  $J_{6a,6b} = 9.9$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 137.5\text{--}126.4$  ( $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 102.7 (C-7), 99.9 (C-1), 76.4 (C-4), 69.4 (C-6), 68.0 (C-3), 62.2 (C-2), 58.6 (C-2), 56.3 ( $\text{OCH}_3$ ).

$\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5$  307.3

**Methyl-4,6-*O*-benzyliden-2-(*tert*-butoxycarbonyl)amino-2-desoxy- $\alpha$ -D-altopyranosid**  
(198)



Eine Lösung aus 1.94 g (6.31 mmol) Azid **197** in 40 mL EtOH wird in einem Autoklaven entgast und anschließend mit 9 mg PtO<sub>2</sub> und 1.58 g (7.22 mmol) Boc<sub>2</sub>O versetzt. Die Lösung wird unter leichtem Überdruck bei 40 °C hydriert. Nach 40 h wird die Lösung über Celite filtriert und die klare Lösung eingeeengt. Die amorphe Lösung wird aus EtOAc/Cyclohexan 1:1 umkristallisiert. 2.40 g (6.31 mmol, 100%) des Produkts in Form farbloser Nadeln werden erhalten.

$R_f = 0.24$  (AcOEt/Cyclohexan 1:2)

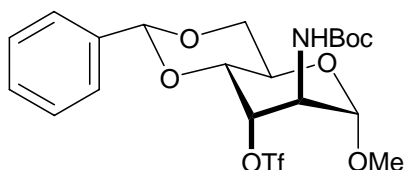
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 7.45-7.25 (m, 5 H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 5.55 (s, 1 H, 7-H), 4.76 (d, 1 H, NH), 4.56 (s, 1 H, 1-H), 4.26 (dd, 1 H, 6-Ha), 4.16 (m, 1 H, 5-H), 4.10-4.00 (m, 1 H, 2-H, 3-H), 3.72 (dd, 1 H, 6-Hb), 3.63 (m, 1 H, 4-H), 3.36 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 2.90 (d, 1 H, 3-OH), 1.45 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>);  $J_{5,6a} = 4.4$  Hz,  $J_{5,6b} = 9.9$  Hz,  $J_{6a,6b} = 9.9$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 153.5 (NHCOOC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 136.1-125.5 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 101.4 (C-7), 100.8 (C-1), 79.4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 76.0 (C-4), 68.1 (C-6), 67.2 (C-3), 57.3 (C-5), 54.8 (OCH<sub>3</sub>), 52.0 (C-2), 27.3 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> 381.42



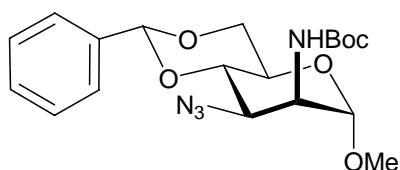
**Methyl-4,6-*O*-benzyliden-2-(*tert*-butoxycarbonyl)amino-2,3-dideoxy-3-*O*-trifluormethansulfonyl- $\alpha$ -D-altropyranosid (**199**)**



2.832 g (7.44 mmol) des Alkohols und 0.9 mL (11.17 mmol, 1.5 Äq) werden in 40 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst und auf  $-25^\circ\text{C}$  abgekühlt. Anschließend wird innerhalb von 30 min. tropfenweise 1.31 mL (7.66 mmol, 1.04 äq)  $\text{Ti}_2\text{O}$  zugegeben. Nach Beenden der Zugabe wird für weitere 3 h bei  $0^\circ\text{C}$  gerührt, bis dünnschichtchromatographisch vollständiger Umsatz festzustellen ist. Man verdünnt mit 160 mL  $\text{Et}_2\text{O}$ , der ausgefallene Feststoff wird filtriert und das Filtrat eingengt. 3.67 g (7.15 g, 96%) eines orangenen Sirups werden erhalten, der ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet wird.

$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{F}_3\text{NO}_9$  513.13

**Methyl-3-azido-4,6-*O*-benzyliden-2-(*tert*-butoxycarbonyl)amino-2,3-dideoxy- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**200**)**



Eine Mischung aus 1.65 g (3.22 mmol) Triflat **199**, 1.02 g (6.44 mmol, 2 äq)  $\text{N,N,N',N'}$ -Tetramethyl-guanidiniumazid und 2.19 g (6.44 mmol, 2 Äq) TBAHS werden in 80 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst und für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit 100 mL Cyclohexan verdünnt und mit Wasser (2x20 mL) gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase über  $\text{NaSO}_4$  wird das Lösemittel im Vakuum abgezogen und der verbleibende Sirup säulenchromatographisch aufgereinigt ( $\text{AcOEt/Cyclohexan}$  1:8). 0.63 g (1.55 mmol, 48%) eines farblosen Feststoffs werden erhalten.

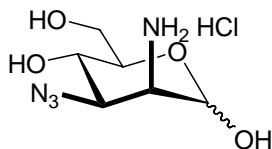
$R_f = 0.47$  (AcOEt/Cyclohexan 1:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 7.43\text{--}7.18$  (m, 5 H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 5.55 (s, 1 H, 7-H), 4.71 (d, 1 H, NH), 4.62 (s, 1 H, 1-H), 4.22 (dd, 1 H, 6-Ha), 4.12 (m, 1 H, 2-H), 4.05 (dd, 1 H, 3-H), 3.81 (ddd, 1 H, 5-H), 3.75 (dd, 1 H, 6-Hb), 3.64 (dd, 1 H, 4-H), 3.32 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ), 1.41 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ );  $J_{2,3} = 4.2$  Hz,  $J_{3,4} = 9.7$  Hz,  $J_{4,5} = 9.7$  Hz,  $J_{5,6a} = 4.4$  Hz,  $J_{5,6b} = 9.9$  Hz,  $J_{6a,6b} = 9.9$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 154.3$  ( $\text{NHCOOC}(\text{CH}_3)_3$ ), 135.8–124.9 ( $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 101.8 (C-7), 99.8 (C-1), 79.4 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 77.2 (C-4), 67.8 (C-6), 62.3 (C-5), 57.2 (C-3), 54.1 ( $\text{OCH}_3$ ), 51.7 (C-2), 27.2 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).

$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_6$  406.19

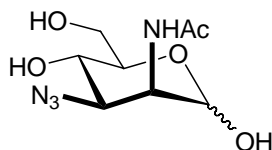
## 2-Amino-3-azido-2,3-dideoxy-D-mannose Hydrochlorid (201)



0.61 g (1.5 mmol) des Azids **200** werden in 25 mL einer Mischung aus AcOH und Wasser (4:1) über Nacht unter Rückfluß erhitzt. Nach Ende der Reaktion wird im Vakuum eingengt und der verbleibende Rückstand über Kieselgur filtriert. Man wäscht mit AcOEt/MeOH (1:1) nach. Nach wiederholtem Einengen wird der erhaltene Sirup in 20 mL 5 N HCl aufgenommen und für 24 h unter Rückfluß erhitzt. Man lässt die Lösung auf Raumtemperatur abkühlen und engt im Vakuum ein. Der resultierende Feststoff wird mit  $\text{Et}_2\text{O}$  (15 mL) gewaschen und säulenchromatographisch aufgereinigt (AcOEt/Cyclohexan 1:4). 282 mg (1.18 mmol, 78%) eines farblosen Sirups werden erhalten.

$R_f = 0.21$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  10:1)

$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{ClN}_4\text{O}_4$  240.64

**2-Acetamido-3-azido-2,3-dideoxy-D-mannose (202)**

282 mg (1.18 mmol) des Hydrochlorids **201** werden in 2.1 mL MeOH und 1.1 mL Pyridin gelöst. Man gibt 1.1 mL Ac<sub>2</sub>O zu und rührt bei Raumtemperatur für 40 min. Das Lösemittel wird im Vakuum abgezogen und der Rückstand mehrmals mit Toluol koevapoziert. Der verbleibende Rückstand wird säulenchromatographisch aufgereinigt (AcOEt/MeOH/Wasser 85:12:3). Man erhält 199 mg (0.81 mmol, 70%) des Produkts **202** als farblosen Sirup.

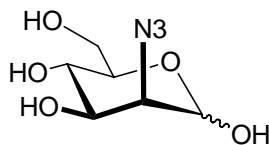
$R_f = 0.31$  (AcOEt/MeOH/Wasser 85:12:3)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.18$  (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 5.12 (d, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.59 (dd, 1 H, 2 $\beta$ -H), 4.46 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 4.04 (dd, 1 H, 3 $\beta$ -H), 3.98 (m, 1 H, 5 $\alpha$ -H), 3.95-3.88 (m, 4 H, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\alpha$ -Hb, 6 $\beta$ -Ha, 6 $\beta$ -Hb), 3.80 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.72 (dd, 1 H, 4 $\beta$ -Hb), 3.57 (ddd, 1 H, 5 $\beta$ -H), 2.11 (s, 3 H, OCOCH<sub>3</sub>);  $J_{1\alpha,2\alpha} = 1.5$  Hz,  $J_{1\beta,2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha} = 4.1$  Hz,  $J_{2\beta,3\beta} = 4.4$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 10.2$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 176.0$  (NCOCH<sub>3</sub> $\beta$ ), 175.0 (NCOCH<sub>3</sub> $\alpha$ ), 100.7 (C-1 $\gamma$ ), 93.4 (C-1 $\beta$ ), 92.9 (C-1 $\alpha$ ), 77.4 (C-5 $\beta$ ), 72.3 (C-5 $\alpha$ ), 66.0 (C-4 $\alpha$ ), 65.6 (C-4 $\beta$ ), 64.6 (C-3 $\beta$ ), 61.7 (C-3 $\alpha$ ), 60.6 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 52.7 (C-2 $\beta$ ), 52.0 (C-2 $\alpha$ ), 22.3 (s, 3 H, NCOCH<sub>3</sub> $\beta$ ), 22.2 (s, 3 H, NCOCH<sub>3</sub> $\alpha$ ).

C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>

246.22

**2-Azido-2-desoxy-mannose (203)****ManN<sub>3</sub>**

Eine Lösung aus 7 g (108 mmol) NaN<sub>3</sub> in 16 mL Wasser und 8 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> wird auf 0°C abgekühlt. Zu der stark rührenden Lösung wird vorsichtig tropfenweise 4.9 g (18 mmol, 3.02 mL) Tf<sub>2</sub>O zugegeben. Nach 2 h Rühren bei 0°C wird die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (60 mL) gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden nochmals mit einer wässrigen Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung extrahiert. Die frisch bereitete TfN<sub>3</sub>-Lösung wird zügig zu einer Lösung aus 0.9 g (4.2 mmol) ManNH<sub>2</sub>·HCl, 0.96 g K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und 16 mg Cu<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in 30 ml MeOH und 16 mL Wasser gegeben. Zusätzlich wird mit MeOH verdünnt, nachdem die Lösung klar wird. Man rührt den Reaktionsansatz bei Raumtemperatur über Nacht. Nach Eindampfen des Lösemittels und Flash-Chromatographie (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1) wird der erhaltene gelbe Sirup nochmals in MeOH aufgenommen und mit Aktivkohle entfärbt. Filtration und Einengen des Lösemittels liefern 864 mg (4.2 mmol, 100%) des hochreinen Produkts als farblosen Feststoff.

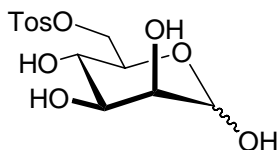
$R_f = 0.82$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 5.26$  (d, 1 H, 1 $\alpha$ -H), 5.03 (d, 1 H, 1 $\beta$ -H), 4.07 (dd, 1 H, 3 $\alpha$ -H), 4.04 (dd, 1 H, 2 $\beta$ -H), 3.99 (dd, 1 H, 2 $\alpha$ -H), 3.90-3.82 (m, 3 H, 3 $\beta$ -H, 6 $\alpha$ -Ha, 6 $\beta$ -Ha), 3.80 (m, 1 H, 5 $\alpha$ -H), 3.75-3.67 (m, 2 H, 6 $\beta$ -Hb, 6 $\alpha$ -Hb), 3.62 (dd, 1 H, 4 $\alpha$ -H), 3.51 (dd, 1 H, 4 $\beta$ -H), 3.36 (ddd, 1 H, 5 $\beta$ -H);  $J_{1,2\alpha} = 1.6$  Hz,  $J_{1,2\beta} = 1.7$  Hz,  $J_{2,3\alpha} = 4.7$  Hz,  $J_{2,3\beta} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4\alpha} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{4,5\alpha} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5\beta} = 9.8$  Hz,  $J_{5,6a\beta} = 2.3$  Hz,  $J_{5,6b\beta} = 5.1$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 93.4$  (C-1 $\alpha$ ), 92.6 (C-1 $\beta$ ), 76.8 (C-5 $\beta$ ), 73.0 (C-3 $\beta$ ), 72.8 (C-5 $\alpha$ ), 70.6 (C-3 $\alpha$ ), 67.3 (C-4 $\alpha$ ), 67.0 (C-4 $\beta$ ), 66.4 (C-2 $\beta$ ), 64.9 (C-2 $\alpha$ ), 61.3 (C-6 $\beta$ ), 61.1 (C-2 $\alpha$ ).

C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>

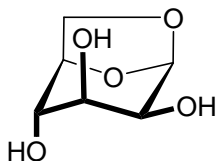
262.22

**6-O-Tosyl-D-mannose (204)**

In einem Dreihalskolben mit Tropftrichter, Rührer und Innenthermometer werden unter Kühlung zu einer Lösung aus 10 g (55.6 mmol) Mannose in 150 mL Pyridin bei 0°C 11 g (57.9 mmol) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (gelöst in 50 mL Pyridin) langsam zugetropft. Nach beendeter Zugabe wird die Lösung über Nacht gerührt und das Lösemittel anschließend im Vakuum eingengt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel aufgereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 5:1). Man erhält 6.24 g (18.7 mmol, 34%) des Produkts als farblosen Feststoff.

$R_f = 0.52$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 5:1)

C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub>S    344.34

**1,6-Anhydro-β-D-mannopyranose (205)**

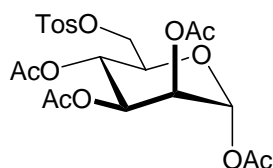
11.1 g (33.3 mmol) des Tosylats **204** werden in 350 mL Ethanol gelöst und mit 10.2 g DBU versetzt. Anschließend wird für 24 h bei Raumtemperatur gerührt, über Kieselgur filtriert und im Vakuum eingengt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch am Kieselgel aufgereinigt (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 4:1). Man erhält 5.2 g (32.1 mmol, 97%) des Produkts als farblosen Feststoff.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O): δ = 5.41 (s, 1 H, 1-H), 4.59 (dd, 1 H, 5-H), 4.22 (dd, 1 H, 6-H<sub>a</sub>), 3.97 (dd, 1 H, 2-H), 3.95 (t, 1 H, 3-H), 3.79 (dd, 1 H, 4-H), 3.75 (dd, 1 H, 6-H<sub>b</sub>);  $J_{1,2} = 1.6$  Hz,  $J_{2,3} = 2.0$  Hz,  $J_{3,4} = 3.3$  Hz,  $J_{4,5} = 0.9$  Hz,  $J_{5,6a} = 4.8$  Hz,  $J_{5,6a} = 6.0$  Hz,  $J_{6a,6b} = 7.7$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 104.0 (C-1), 78.6 (C-5), 74.3 (C-3), 73.0 (C-2), 68.7 (C-4), 67.5 (C-6).

$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$       162.14

### 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-tosyl- $\alpha$ -D-mannopyranose (207)



10 g (55.6 mmol) Mannose werden in 120 mL Pyridin gelöst und innerhalb einer Stunde bei 0°C mit einer Lösung von 14 g (72.2 mmol, 1.3 äq) TosCl in 20 mL Pyridin versetzt. Man rührt die Lösung über Nacht bei 0°C und für weitere 24 h bei Raumtemperatur, bis vollständiger Umsatz von Mannose zum Tosylat zu beobachten ist (DC-Kontrolle:  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  2:1). Es wird mit 45.8 g (445 mmol, 2 äq/OH-Gruppe)  $\text{Ac}_2\text{O}$  versetzt und bis zum vollständigen Umsatz bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle:  $\text{AcOEt}/\text{Cyclohexan}$  2:1). Das Lösemittel wird im Vakuum eingengt, mit Toluol mehrmals koevapiert und der Rückstand säulenchromatographisch aufgereinigt ( $\text{AcOEt}/\text{Cyclohexan}$  1:1). 23.76 g (47.3 mmol, 85%) eines gelben Sirups werden erhalten.

$R_f$  = 0.78 ( $\text{AcOEt}/\text{Cyclohexan}$  4:1)

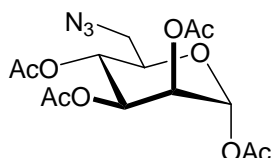
$\alpha/\beta$  1:1.5

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 7.68 (m, 2 H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 7.28 (m 2 H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 5.92 (d, 1 H, 1- $\text{H}_\alpha$ ), 5.73 (d, 1 H, 1- $\text{H}_\beta$ ), 5.37 (dd, 1 H, 3- $\text{H}_\beta$ ), 5.24 (dd, 1 H, 3- $\text{H}_\alpha$ ), 5.20-5.10 (m, 3 H, 2- $\text{H}_\alpha$ , 4- $\text{H}_\alpha$ , 4- $\text{H}_\beta$ ), 5.02 (dd, 1 H, 3- $\text{H}_\beta$ ), 4.10-4.00 (m, 3 H, 5- $\text{H}_\alpha$ , 6- $\text{H}_\alpha\alpha$ , 6- $\text{H}_\beta\alpha$ ), 3.72 (ddd, 1 H, 5- $\text{H}_\beta$ ), 2.10-1.92 (s, 12 H,  $\text{COCH}_3$ );  $J_{1\alpha,2\alpha}$  = 1.9 Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha}$  = 3.5 Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha}$  = 9.8 Hz,  $J_{1\beta,2\beta}$  = 1.2 Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha}$  = 3.3 Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha}$  = 9.6 Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 169.5-167.6 ( $\text{COCH}_3$ ), 145.4, 133.1, 129.9, 128.0 ( $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 90.7 (C-1 $\alpha$ ), 90.6 (C-1 $\alpha$ ), 73.2 (C-5 $\beta$ ), 70.8 (C-5 $\alpha$ ), 70.8 (C-3 $\beta$ ), 68.9 (C-3 $\alpha$ ), 68.4 (C-2 $\beta$ ), 68.2 (C-6 $\alpha$ ), 67.9 (C-6 $\beta$ ), 66.2 (C-4 $\alpha$ ), 66.0 (C-4 $\beta$ ), 20.7-20.4 ( $\text{COCH}_3$ ).

$C_{21}H_{26}O_{12}S$ 

502.49

**1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-azido- $\alpha$ -D-mannopyranose (208)**

4.93 g (9.8 mmol) des Tosylats **207** werden in 80 mL DMSO gelöst, mit 3.19 g (49.1 mmol, 5 Äq.)  $NaN_3$  versetzt und für 24 h bei 55°C gerührt. Nach vollständigem Umsatz wird auf Raumtemperatur abgekühlt, mit 80 mL Wasser verdünnt und mit AcOEt gewaschen (3x80 mL), die organischen Phasen vereinigt, mit Wasser gewaschen, über  $MgSO_4$  getrocknet und das Lösemittel im Vakuum eingengt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung an Flash-Kieselgel (AcOEt/Cyclohexan 1:3) werden 2.32 g (7.34 mmol, 75%) des Produkts als gelber Sirup erhalten.

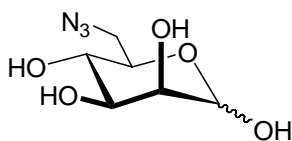
$R_f = 0.46$  (AcOEt/Cyclohexan 1:1)

$\alpha/\beta$  1.2:1

**$^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  = 6.02 (d, 1 H, 1- $H_\alpha$ ), 5.80 (d, 1 H, 1- $H_\beta$ ), 5.42 (dd, 1 H, 2- $H_\beta$ ), 5.28 (m, 2 H, 2- $H_\alpha$ , 3- $H_\alpha$ ), 5.19 (m, 2 H, 4- $H_\alpha$ , 4- $H_\beta$ ), 5.06 (dd, 1 H, 3- $H_\beta$ ), 3.93 (ddd, 1 H, 5- $H_\alpha$ ), 3.69 (ddd, 1 H, 5- $H_\alpha$ ), 3.39-3.22 (m, 2 H, 6- $H_{\alpha\alpha}$ , 6- $H_{\beta\alpha}$ ), 2.15-1.94 (s, 12 H,  $COCH_3$ );  $J_{1\alpha,2\alpha} = 1.9$  Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha} = 3.5$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{1\beta,2\beta} = 1.2$  Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha} = 3.3$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.6$  Hz.

**$^{13}C$ -NMR (125MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  = 170.6-168.4 ( $COCH_3$ ), 90.7 (C-1 $\alpha$ ), 90.6 (C-1 $\beta$ ), 74.8 (C-5 $\beta$ ), 72.2 (C-5 $\alpha$ ), 71.0 (C-3 $\beta$ ), 70.0 (C-3 $\alpha$ ), 68.7 (C-2 $\beta$ ), 68.5 (C-2 $\alpha$ ), 66.9 (C-4 $\alpha$ , C-4 $\beta$ ), 51.1 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 21.1-20.9 ( $COCH_3$ ).

 $C_{14}H_{19}N_3O_9$  373.32

**6-Azido-D-mannose (206)**Entschüttung von **208** nach **AAV 5**Ansatz: 2.32 g (7.34 mmol) Azid **208**

100 mL MeOH

Nach Einengen der Lösung anschließendes Filtrieren über Ionentauscher ( $\text{H}^+$ ,  $\text{HCO}_3^{2-}$ -Form)

Ausbeute: 1.03 g (5.0 mmol, 81%) als gelber Schaum

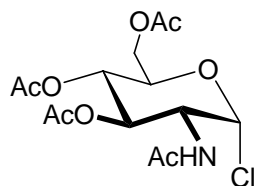
 $R_f = 0.46$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  5:1) $\alpha/\beta$  1.3:1

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 5.12$  (d, 1 H, 1- $\text{H}\alpha$ ), 4.86 (d, 1 H, 1- $\text{H}\beta$ ), 3.88 (m, 2 H, 2- $\text{H}\alpha$ , 2- $\text{H}\beta$ ), 3.78 (dd, 1 H, 3- $\text{H}\alpha$ ), 3.66-3.56 (m, 5 H, 4- $\text{H}\alpha$ , 3- $\text{H}\beta$ , 5- $\text{H}\alpha$ , 6- $\text{H}\alpha\alpha$ , 6- $\text{H}\alpha\beta$ ), 3.56-3.48 (m, 3 H, 4- $\text{H}\beta$ , 6- $\text{H}\beta\alpha$ , 6- $\text{H}\beta\beta$ ), 3.44 (ddd, 1 H, 5- $\text{H}\beta$ );  $J_{1\alpha,2\alpha} = 1.7$  Hz,  $J_{1\beta,2\beta} = 1.0$  Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha} = 3.4$  Hz,  $J_{2\beta,3\beta} = 3.2$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.7$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 94.6$  (C-1 $\alpha$ ), 94.2 (C-1 $\beta$ ), 75.0 (C-5 $\beta$ ), 73.2 (C-3 $\beta$ ), 71.5 (C-2 $\beta$ ), 71.4, 71.0 (C-2 $\alpha$ , C-5 $\alpha$ ), 70.4 (C-3 $\alpha$ ), 68.0 (C-4 $\alpha$ ), 67.7 (C-4 $\beta$ ), 51.5 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ).

 $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_5$  205.17



**2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- $\alpha$ -D-glucopyranosylchlorid (209)**

Eine Suspension aus 10.2 g (46.1 mmol) GlcNAc in 35 mL (492.6 mmol, 11 Äq.) Acetylchlorid wird über Nacht unter Argon gerührt. Die entstehende rötliche Lösung wird mit 80 mL  $\text{CHCl}_3$  verdünnt und auf ca. 200 mL Eis gegossen. Die organische Phase wird abgetrennt, mit einer Mischung aus Eis und Wasser (100 mL) gewaschen, die wäßrige Phase mit  $\text{CHCl}_3$  (2x40 mL) rückextrahiert, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösemittel eingengt. Nach Aufreinigung über Flash-Kieselgel ( $\text{AcOEt/Cyclohexan}$  1:1) werden 8.62 g (78 %) des Produkts als farbloser Feststoff erhalten.

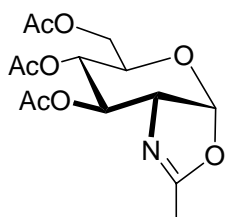
$R_f = 0.29$  ( $\text{AcOEt/Cyclohexan}$  1:1)

$R_f = 0.88$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  5:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 6.17$  (d, 1 H, 1-H), 5.90 (d, 1 H, N-H), 5.31 (dd, 1 H, 3-H), 5.19 (dd, 1 H, 4-H), 4.52 (dd, 1 H, 2-H), 4.27 (dd, 1 H, 6-Ha), 4.25 (ddd, 1 H, 5-H), 4.12 (dd, 2 H, 6-Hb), 2.08, 2.03, 1.87 (s, 12 H,  $\text{COCH}_3$ );  $J_{1,2} = 3.7$  Hz,  $J_{2,\text{NH}} = 8.7$  Hz,  $J_{2,3} = 9.6$  Hz,  $J_{3,4} = 9.7$  Hz,  $J_{4,5} = 9.9$  Hz,  $J_{5,6a} = 4.1$  Hz,  $J_{5,6b} = 1.9$  Hz,  $J_{6a,6b} = 11.5$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 171.4$  ( $\text{COCH}_3$ ), 170.5 ( $\text{COCH}_3$ ), 170.1 ( $\text{COCH}_3$ ), 169.1 ( $\text{COCH}_3$ ), 93.6 (C-1), 70.9 (C-5), 70.1 (C-3), 70.0 (C-4), 61.1 (C-6), 53.4 (C-2), 23.0 ( $\text{COCH}_3$ ), 20.6 ( $\text{COCH}_3$ ), 20.5 ( $\text{COCH}_3$ ).

$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{ClNO}_8$  365.76

**2-Methyl-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-1,2-dideoxy- $\alpha$ -D-glucopyrano)[2,1-d]- $\Delta^2$ -oxazolin (**210**)**

8.61 g (35.9 mmol, 1 Äq.) Chlorid **209**, 5.13 g (62.2 mmol, 1.7 Äq.) wasserfreies NaHCO<sub>3</sub> und 7.98 g (28.7 mmol, 0.8 Äq.) TBAC werden unter Argon in 40 mL trockenem Acetonitril suspendiert und 1 h bei 55°C erhitzt. Die gelbe Suspension wird eingengt, der Rückstand in 100 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> aufgenommen und mit Wasser (3x50 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wird mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x50 mL) rückextrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösemittel in Vakuum abgezogen. Das rotbraune Öl wird säulenchromatographisch (AcOEt/Cyclohexan 4:1) aufgereinigt. Es werden 7.10 g (97 %) des gewünschten Produkts **210** als gelbes Öl erhalten.

$R_f = 0.72$  (MTBE/MeOH 98:2)

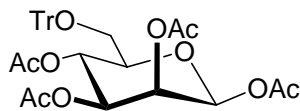
$R_f = 0.23$  (AcOEt/Cyclohexan 3:1)

$R_f = 0.40$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 5.90 (d, 1 H, 1-H), 5.20 (dd, 1 H, 3-H), 4.87 (ddd, 1 H, 4-H), 4.11 (d, 2 H, 6-Ha, 6-Hb), 4.05 (m, 1 H, 2-H), 3.53 (m, 1 H, 5-H), 2.04, 2.03, 2.01 (s, 9 H, OCOCH<sub>3</sub>);  $J_{1,2} = 7.4$  Hz,  $J_{2,3} = 2.5$  Hz,  $J_{3,4} = 2.5$  Hz,  $J_{4,5} = 9.2$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 170.9, 169.9, 169.6 (OCOCH<sub>3</sub>), 167.0 (C-7), 99.8 (C-1), 70.8 (C-3), 68.8 (C-4), 67.9 (C-5), 65.4 (C-2), 63.7 (C-6), 21.3, 21.2, 21.1 (OCOCH<sub>3</sub>).

C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>8</sub> 329.30

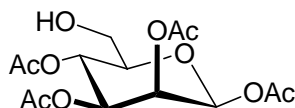
**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-trityl- $\beta$ -D-mannopyranose (211)**

20 g (111 mmol) Mannose und 35.3 g (111 mmol) Tritylchlorid werden in 100 mL Pyridin gegeben und auf 50°C erwärmt. Ist die Lösung klar, werden 60 mL Ac<sub>2</sub>O zugegeben und das Reaktionsgemisch für 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird vorsichtig auf 800 mL Eiswasser gegeben. Ein farbloser Feststoff scheidet sich ab. Man filtriert ab und kristallisiert aus EtOH um. 13.5g (22.9 mmol, 21%) des gewünschten Produkts **211** werden als farblose Kristalle erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 7.45-7.25 (m, 15 H, H<sub>arom</sub>), 5.86 (dd, 1 H, 1-H), 5.46 (dd, 1 H, 2-H), 5.37 (dd, 1 H, 4-H), 5.07 (dd, 1 H, 3-H), 3.65 (dd, 1 H, 5-H), 3.34 (dd, 1 H, 6-H<sub>a</sub>), 3.17 (dd, 1 H, 6-H<sub>b</sub>), 2.23, 2.12, 1.98, 1.74 (s, 3 H, OCOCH<sub>3</sub>);  $J_{1,2}$  = 1.0 Hz,  $J_{2,3}$  = 3.2 Hz,  $J_{3,4}$  = 9.8 Hz,  $J_{4,5}$  = 9.8 Hz,  $J_{5,6a}$  = 2.8 Hz,  $J_{5,6b}$  = 4.6 Hz,  $J_{6a,6b}$  = 10.6 Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 170.5, 170.2, 170.1, 169.9 (OCOCH<sub>3</sub>), 129.2, 128.2, 127.4, (CC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, CC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 90.9 (C-1), 75.1 (C-5), 71.4 (C-3), 68.8 (C-2), 66.4 (C-4), 62.7 (C-6), 21.2, 21.1, 21.0, 20.9 (OCOCH<sub>3</sub>).

C<sub>33</sub>H<sub>34</sub>O<sub>10</sub>      590.22

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranose (212)**

13.5 g (22.9 mmol) des Trityls **212** werden bei 70°C in 60 mL AcOH gelöst. Man läßt auf Raumtemperatur abkühlen und gibt in einem Scheidetrichter vorsichtig 5.27 mL HBr/AcOH (33%), schüttelt für ca. 1 min. Das ausgefallene Tritylbromid wird abfiltriert und das Filtrat

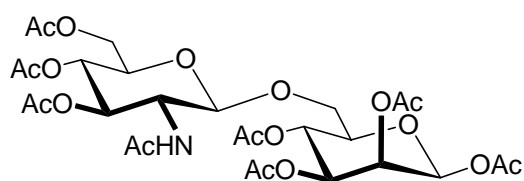
auf 300 mL Eiswasser gegeben. Man wäscht mit  $\text{CHCl}_3$  (3x30 mL), die organischen Phasen werden gesammelt und nochmals mit Wasser (2x20 mL) gewaschen, über  $\text{NaSO}_4$  getrocknet und das Lösemittel im Vakuum eingengt. Der erhaltene Rückstand wird aus  $\text{Et}_2\text{O}$  umkristallisiert. 4.99 g (14.3 mmol, 63%) des gewünschten Produkts werden als farbloser Feststoff erhalten.

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 5.88 (dd, 1 H, 1-H), 5.50 (dd, 1 H, 2-H), 5.26 (dd, 1 H, 4-H), 5.17 (dd, 1 H, 3-H), 3.76 (dd, 1 H, 6- $\text{H}_a$ ), 3.66 (dd, 1 H, 6- $\text{H}_b$ ), 3.62 (dd, 1 H, 5-H), 2.21, 2.16, 2.11, 2.08 (s, 12 H,  $\text{OCOCH}_3$ );  $J_{1,2}$  = 1.1 Hz,  $J_{2,3}$  = 3.2 Hz,  $J_{3,4}$  = 10.1 Hz,  $J_{4,5}$  = 10.1 Hz,  $J_{5,6a}$  = 5.0 Hz,  $J_{5,6b}$  = 4.7 Hz,  $J_{6a,6b}$  = 12.7 Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 170.5, 170.2, 170.1, 169.9 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 90.8 (C-1), 75.9 (C-5), 71.0 (C-3), 68.7 (C-2), 66.1 (C-4), 61.5 (C-6), 21.2, 21.1, 21.0, 20.9 ( $\text{OCOCH}_3$ ).

$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$      348.30

**6-*O*-(2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-1,2,3,4-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-mannose (213)**



390 mg (1.18 mmol) Oxazolin **210** werden in 5 mL trockenem  $\text{CHCl}_3$  gelöst und mit frisch ausgeglühtem Molsieb, sowie 132 mg (1.18 mmol) wasserfreiem  $\text{CuCl}_2$  versetzt. Nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur wird der dunkelgrünen Lösung 1.66 g (4.74 mmol, 4 Äq.) 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-mannose **212** zugegeben und über Nacht unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird mit 30 mL  $\text{AcOEt}$  verdünnt, die organische Phase mit 1 N  $\text{HCl}$  (2x20 mL), ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (20 mL), 2 N  $\text{NaOH}$  (20 mL), gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingengt. Anschließend wird über Flash-Kieselgel

aufgereinigt (AcOEt/Cyclohexan 2:1). Es werden 460 mg (0.69 mmol, 58%) leicht gelber Kristalle erhalten.

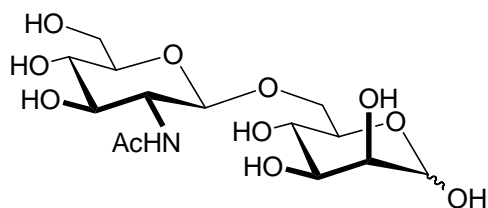
$R_f = 0.14$  (AcOEt/Cyclohexan 3:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 6.18$  (d, 1 H, NH), 5.62 (d, 1 H, 1-H), 5.44 (dd, 1 H, 2-H), 5.10 (dd, 1 H, 4-H), 5.02 (dd, 1 H, 3-H), 4.99 (dd, 1 H, 4-H'), 4.91 (dd, 1 H, 3-H'), 4.45 (d, 1 H, 1-H'), 4.16 (m, 1 H, 2-H'), 4.14 (m, 1 H, 6-Ha'), 4.05 (m, 1 H, 6-Hb'), 3.84 (dd, 1 H, 6-Ha), 3.68 (ddd, 1 H, 5-H), 3.58 (m, 2 H, 5-H', 6-Hb), 2.16, 2.11, 2.03, 1.99, 1.96, 1.94, 1.92 (s, 24 H,  $\text{OCOCH}_3$ );  $J_{1,2} = 1.0$  Hz,  $J_{2,3} = 3.3$  Hz,  $J_{3,4} = 9.9$  Hz,  $J_{4,5} = 9.9$  Hz,  $J_{5,6a} = 1.3$  Hz,  $J_{6a,6b} = 12.6$  Hz,  $J_{1',2'} = 8.6$  Hz,  $J_{\text{NH},2} = 9.6$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.5$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.6$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 171.5, 171.2, 171.1, 170.9, 170.5, 170.1, 169.6$  ( $\text{OCOCH}_3$ ), 102.2 (C-1'), 91.0 (C-1), 76.6 (C-5), 73.4 (C-3'), 72.2 (C-5'), 71.1 (C-3), 68.9 (C-4'), 68.3 (C-2), 67.6 (C-6), 65.7 (C-4), 62.5 (C-6'), 53.7 (C-2'), 63.7 (C-6), 23.3, 21.4, 21.1 21.0, 20.9, 20.5, 14.6 ( $\text{OCOCH}_3$ ).

$\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{NO}_{18}$  670.3

#### 6-O-(2-Acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-D-mannose (**214**)



Entschüttung des Disaccharids **213** nach **AAV 5**

Ansatz: 460 mg (0.69 mmol) Disaccharid **213**

Ausbeute: 245 mg (0.64 mmol, 94%) **214** als farbloser Schaum

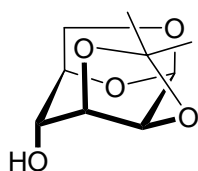
$R_f = 0.47$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 4.88 (d, 1 H,  $1\alpha\text{-H}$ ), 4.60 (d, 1 H,  $1\beta\text{-H}$ ), 4.33 (d, 1 H,  $1\beta\text{-H}'$ ), 4.31 (d, 1 H,  $1\alpha\text{-H}'$ ), 3.88 (m, 1 H,  $6\beta\text{-Ha}$ ), 3.84 (dd, 1 H,  $6\beta\text{-Ha}$ ), 3.65 (m, 6 H,  $2\alpha\text{-H}$ ,  $2\beta\text{-H}$ ,  $3\alpha\text{-H}$ ,  $3\beta\text{-H}$ ,  $5\alpha\text{-H}$ ,  $6'\text{-Ha}$ ), 3.55 (m, 2 H,  $3\text{-H}'$ ,  $6\alpha\text{-Hb}$ ), 3.50-3.43 (m, 3 H,  $6\beta\text{-Hb}$ ,  $2'\text{-H}$ ,  $6'\text{-Hb}$ ), 3.37 (m, 2 H,  $4\alpha\text{-H}$ ,  $3\beta\text{-H}$ ), 3.32-3.22 (m, 2 H,  $5\alpha\text{-H}$ ,  $4\beta\text{-H}$ ), 3.20 (m, 4 H,  $4\alpha\text{-H}$ ,  $5\beta\text{-H}$ ,  $4\text{-H}'$ ,  $5\text{-H}'$ ), 1.79 (s, 3 H,  $\text{OCOCH}_3$ );  $J_{1\alpha,2\alpha} = 1.7$  Hz,  $J_{1\beta,2\beta} = 1.0$  Hz,  $J_{1',2'} = 8.5$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 173.8 ( $\text{NCOCH}_3$ ), 100.7 ( $\text{C-1}'$ ), 93.1 ( $\text{C-1}\alpha$ ), 92.8 ( $\text{C-1}\beta$ ), 74.9 ( $\text{C-5}'$ ), 74.2 ( $\text{C-5}\beta$ ), 72.8 ( $\text{C-3}'$ ), 70.4 ( $\text{C-5}\alpha$ ), 70.2 ( $\text{C-3}\alpha$ ), 69.4 ( $\text{C-2}\alpha$ ), 69.0 ( $\text{C-4}'$ ), 68.2 ( $\text{C-6}\alpha$ ), 68.1 ( $\text{C-6}\beta$ ), 65.9 ( $\text{C-4}\alpha$ ), 65.7 ( $\text{C-4}\beta$ ), 59.8 ( $\text{C-6}'$ ), 54.6 ( $\text{C-2}'$ ), 21.3 (s, 3 H,  $\text{NCOCH}_3$ ).

$\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{NO}_{11}$  383.35

### 1,6-Anhydro-2,3-*O*-isopropyliden- $\beta$ -D-mannopyranose (215)



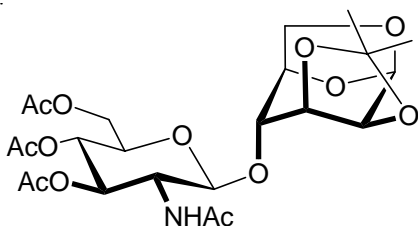
5.2 g (32.1 mmol) des Anhydrids **205** werden in 270 mL Aceton gelöst und mit 9.5 mL (81.4 mmol) 2,2-Dimethoxypropan versetzt. Nach Zugabe von 2.3 g (13.2 mmol) *p*-Toluolsulfonsäure wird bei Raumtemperatur für 2 h gerührt. Man neutralisiert mit 2.7 mL  $\text{Et}_3\text{N}$ . Nach Entfernen des Lösemittels wird der verbleibende Rückstand in 680 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst, mit ges.  $\text{NaHCO}_3$  Lösung (2x200 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch am Kieselgel aufgereingt ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  3:1). Man erhält 4.97 g (24.6 mmol, 77%) des Produkts als hellgelbes Öl.

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 5.35 (s, 1 H,  $1\text{-H}$ ), 4.53 (dd, 1 H,  $3\text{-H}$ ), 4.22 (dd, 1 H,  $5\text{-H}$ ), 4.08 (dd, 1 H,  $6\text{-H}_a$ ), 3.96 (s, 1 H,  $4\text{-H}$ ), 3.76 (dd, 1 H,  $6\text{-H}_b$ );  $J_{1,2} = 3.0$  Hz,  $J_{2,3} = 6.2$  Hz,  $J_{3,4} = 3.3$  Hz,  $J_{5,6a} = 1.2$  Hz,  $J_{5,6b} = 6.3$  Hz,  $J_{6a,6b} = 7.3$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 99.8 (C-1), 76.5 (C-5), 76.1 (C-3), 72.4 (C-2), 69.8 (C-4), 64.7 (C-6), 26.3 ( $\text{CH}_3$ ).

$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_5$       202.02

**4-*O*-(2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-1,6-anhydro-2,3-*O*-isopropyliden- $\beta$ -D-mannopyranose (**216**)**



826 mg (2.50 mmol) Oxazolin **210** werden in 4 mL trockenem  $\text{CHCl}_3$  gelöst und mit frisch ausgeglühtem Molsieb, sowie 289 mg (2.50 mmol) wasserfreiem  $\text{CuCl}_2$  versetzt. Nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur wird der dunkelgrünen Lösung 1.97 g (9.85 mmol, 4 Äq.) 1,6-Anhydro-2,3-*O*-isopropyliden- $\beta$ -D-mannopyranose **215** zugegeben und über Nacht unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird mit 40 mL AcOEt verdünnt, die organische Phase mit 1 N HCl (2x25 mL), ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (25 mL), 2 N NaOH (25 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Anschließend wird über Flash-Kieselgel aufgereinigt (AcOEt/Cyclohexan 2:1). 447 mg (0.69 mmol, 34%) eines farblosen Feststoffs werden erhalten.

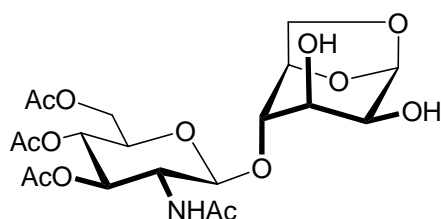
$R_f$  = 0.56 (AcOEt/MeOH 95:5)

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 5.85 (d, 1 H, NH), 5.56 (dd, 1 H, 3'-H), 5.25 (d, 1 H, 1-H), 5.19 (d, 1 H, 1'-H), 4.97 (dd, 1 H, 4'-H), 4.44 (dd, 1 H, 5-H), 4.24 (m, 1 H, 3-H), 4.24 (dd, 1 H, 6'-Ha), 4.05 (m, 1 H, 6'-Hb), 3.98 (dd, 1 H, 2-H), 3.94 (s, 1 H, 4-H), 3.88 (dd, 1 H, 6-Ha), 3.72 (ddd, 1 H, 5'-H), 3.65 (dd, 1 H, 6-Hb), 3.42 (m, 1 H, 2'-H), 2.02, 1.97, 1.96, 1.89 (s, 12 H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 1.46 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ), 1.25 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ );  $J_{1,2}$  = 2.8 Hz,  $J_{2,3}$  = 6.3 Hz,  $J_{5,6a}$  = 1.0 Hz,  $J_{6a,6b}$  = 7.1 Hz,  $J_{1',2'}$  = 8.3 Hz,  $J_{\text{NH},2}$  = 7.8 Hz,  $J_{2',3'}$  = 10.5 Hz,  $J_{3',4'}$  = 9.3 Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 171.3, 171.0, 170.8, 169.9 ( $\text{OCOCH}_3$ ,  $\text{NHCOCH}_3$ ), 110.3 (C-7), 99.7 (C-1), 99.2 (C-1'), 76.5 (C-4), 75.0 (C-3), 73.4 (C-5), 72.5, 72.4 (C-2, C-5'), 71.9 (C-3), 64.7 (C-6), 62.4 (C-6'), 56.5 (C-2'), 26.3 ( $\text{CH}_3$ ), 23.7, 21.1, 21.0 ( $\text{OCOCH}_3$ ,  $\text{NHCOCH}_3$ ).

$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NO}_{13}$  531.51

**4-O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-1,6-anhydro- $\beta$ -D-mannopyranose (217)**

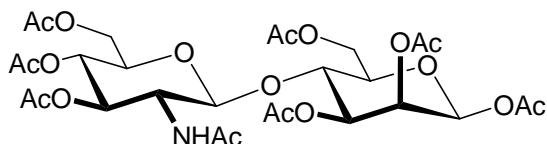


447 mg (0.84 mmol) des Disaccharids **216** in 20 mL  $\text{CHCl}_3$  werden mit 2.35 mL Trifluoressigsäure versetzt und für 24 h bei Raumtemperatur stehen gelassen und anschließend eingeeengt. Spuren von Säure werden durch mehrmaliges Koevapoieren mit Toluol entfernt. Das Produkt wird ohne weitere Aufreinigung weiter verarbeitet. 387 mg (0.79 mmol, 97%) des Rohprodukts werden als leicht gelber Sirup erhalten.

$\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{NO}_{13}$  491.44



**4-O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-1,2,3,6,-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-mannopyranose (218)**



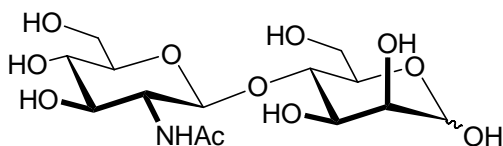
387 mg (0.79 mmol) des Disaccharids **217** werden in einer Mischung aus 4. 8 mL  $\text{Ac}_2\text{O}$ , 2 mL  $\text{AcOH}$  und 0.14 mL konz. $\text{H}_2\text{SO}_4$  für 3.5 h bei Raumtemperatur stehen gelassen. Anschließend wird auf Eiswasser gegeben und mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4x10 mL) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, mit kaltem Wasser (10 mL), ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (10 mL) und wieder mit Wasser (10 mL) gewaschen, über  $\text{NaSO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingengt. Der erhaltene Rückstand wird über Kieselgel aufgereinigt ( $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$  18:1). Die produktenthaltende Fraktionen werden eingengt und 342 mg (0.51 mmol, 64%) eines farblosen Sirup werden erhalten.

$R_f = 0.60$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  1:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 5.96$  (d, 1 H, 1-H), 5.80 (d, 1 H, NH), 5.29 (dd, 1 H, 3-H), 5.19 (dd, 1 H, 3'-H), 5.16 (dd, 1 H, 2-H), 4.98 (dd, 1 H, 4-H), 4.62 (d, 1 H, 1'-H), 4.31 (dd, 1 H, 6-Ha), 4.29 (dd, 1 H, 6-Hb), 4.21 (dd, 1 H, 6-Ha'), 3.96 (dd, 1 H, 6-Hb'), 3.90 (ddd, 1 H, 5-H), 3.79 (dd, 1 H, 4-H), 3.73 (ddd, 1 H, 2'-H), 3.61 (ddd, 1 H, 5-H'), 2.09, 2.08, 2.07, 2.01, 1.96, 1.95, 1.94, 1.89 (s, 24 H,  $\text{OCOCH}_3$ ,  $\text{NHCOCH}_3$ );  $J_{1,2} = 1.6$  Hz,  $J_{2,3} = 3.6$  Hz,  $J_{3,4} = 9.2$  Hz,  $J_{4,5} = 9.7$  Hz,  $J_{5,6a} = 4.5$  Hz,  $J_{5,6b} = 4.3$  Hz,  $J_{1',2'} = 8.3$  Hz,  $J_{\text{NH},2'} = 9.8$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.5$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.5$  Hz,  $J_{5',6a'} = 2.1$  Hz,  $J_{5',6b'} = 2.5$  Hz,  $J_{6a',6b'} = 12.1$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 170.2$ , 168.7, 169.6, 169.5, 168.5, 168.3, 167.3 ( $\text{OCOCH}_3$ ,  $\text{NHCOCH}_3$ ), 100.1 (C-1'), 89.5 (C-1), 72.9 (C-4), 71.2 (C-3'), 70.7 (C-5'), 70.4 (C-5), 68.0 (C-3), 67.6 (C-2), 67.6 (C-4'), 61.2, 61.0 (C-6, C-6'), 54.2 (C-2'), 22.5 ( $\text{NHCOCH}_3$ ), 19.9, 19.7 19.6 ( $\text{OCOCH}_3$ ).

$\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{NO}_{18}$  677.61

**4-O-(2-Acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-mannose (219)**

Entschützung von **218** nach **AVV 5**

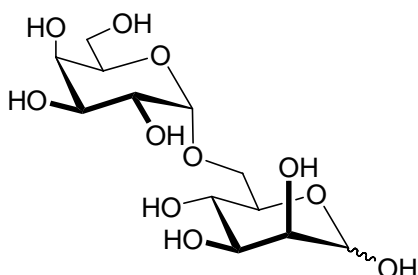
Ansatz: 342 mg (0.51 mmol) Disaccharid **218**

Ausbeute: 178 mg (0.46 mmol, 91%) als farbloser Sirup

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 5.14 (d, 1 H,  $1\alpha\text{-H}$ ), 4.87 (d, 1 H,  $1\beta\text{-H}$ ), 4.55 (d, 1 H,  $1\alpha'\text{-H}$ ), 4.54 (d, 1 H,  $1\beta'\text{-H}$ ), 3.92-3.90 (m, 3 H,  $2\alpha\text{-H}$ ,  $2\beta\text{-H}$ ,  $6\alpha\text{-Ha}$ ), 3.57-3.12 (m, 14 H,  $3\alpha\text{-H}$ ,  $3\beta\text{-H}$ ,  $4\alpha\text{-H}$ ,  $4\beta\text{-H}$ ,  $5\alpha\text{-H}$ ,  $5\beta\text{-H}$ ,  $6\alpha\text{-Hb}$ ,  $6\beta\text{-Ha}$ ,  $6\beta\text{-Hb}$ ,  $3'\text{-H}$ ,  $4'\text{-H}$ ,  $5'\text{-H}$ ,  $6'\text{-Ha}$ ,  $6'\text{-Hb}$ ), 1.77 (s, 3 H,  $\text{NHCOCH}_3$ );  $J_{1\alpha,2\alpha} = 1.8$  Hz,  $J_{1\beta,2\beta} = 0.9$  Hz,  $J_{1'\alpha,2'\alpha} = 8.5$  Hz,  $J_{1'\beta,2'\beta} = 8.4$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 175.0 ( $\text{NHCOCH}_3$ ), 102.0, 101.9 ( $\text{C-1}'\alpha$ ,  $\text{C-1}'\beta$ ), 94.1 ( $\text{C-1}\alpha$ ), 94.0 ( $\text{C-1}\beta$ ), 78.0 ( $\text{C-4}\alpha$ ), 77.6 ( $\text{C-4}\beta$ ), 76.3, 75.5, 73.9, 72.2, 71.1, 71.0, 70.6, 70.2, 69.4 ( $\text{C-2}\alpha$ ,  $\text{C-2}\beta$ ,  $\text{C-3}\alpha$ ,  $\text{C-3}\beta$ ,  $\text{C-5}\alpha$ ,  $\text{C-5}\beta$ ,  $\text{C-3}'$ ,  $\text{C-4}'$ ,  $\text{C-5}'$ ), 61.0, 60.8 ( $\text{C-6}\alpha$ ,  $\text{C-6}\beta$ ,  $\text{C-6}'$ ), 22.5 (s, 3 H,  $\text{NHCOCH}_3$ ).

$\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{NO}_{11}$  383.35

**6-O-( $\alpha$ -D-Galactopyranosyl)-D-mannose (220)****Epimelibiose**Epimerisierung von D-Melibiose nach **AAV 6**

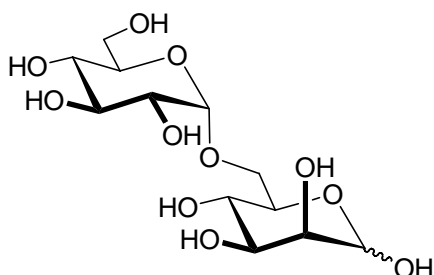
Ansatz: 1.71 g (5 mmol) D-Melibiose in 400 mL MeOH  
555 mg (5 mmol)  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$   
1.02 g (10 mmol)  $\text{Et}_3\text{N}$   
25 min

Ausbeute: 1.71 g (5 mmol) eines gelben Sirups aus 60% Melibiose, 40 % Epimelibiose  
( $\alpha/\beta$  ca. 1.7:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , Melibiose):**  $\delta = 5.25$  (d, 1 H, 1- $\text{H}\alpha$ ), 4.99 (d, d, 2 H, 1'- $\text{H}\alpha$ , 1'- $\text{H}\beta$ ), 4.67 (d, 1 H, 1- $\text{H}\beta$ );  $J_{1\alpha,2} = 3.8$  Hz,  $J_{1\beta,2} = 8.0$  Hz.

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , Epimelibiose):**  $\delta = 5.18$  (d, 1 H, 1- $\text{H}\alpha$ ), 4.99 (d, d, 2 H, 1'- $\text{H}\alpha$ , 1'- $\text{H}\beta$ ), 4.92 (d, 1 H, 1- $\text{H}\beta$ );  $J_{1\alpha,2} = 1$  Hz,  $J_{1\beta,2} = 0.8$  Hz.

$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$  342.3

**6-O-( $\alpha$ -D-Glucopyranosyl)-D-mannose (221)****Epiisomaltose**

Epimerisierung von D-Isomaltose nach **AAV 6**

Ansatz: 451 mg (1.32 mmol) D-Isomaltose in 150 mL MeOH

146 mg (1.32 mmol)  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

270 mg (1.64 mmol)  $\text{Et}_3\text{N}$

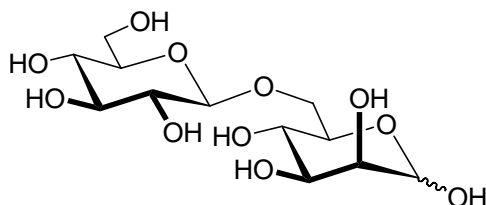
20 min

Ausbeute: 450 mg (1.32 mmol) eines gelben Sirups aus 77% Isomaltose, 23 %  
Epiisomaltose ( $\alpha/\beta$  ca. 2:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , Isomaltose):**  $\delta$  = 5.25 (d, 1 H, 1-H $\alpha$ ), 4.96 (m, 2 H, 1'-H $\alpha$ , 1'-H $\beta$ ), 4.68 (d, 1 H, 1-H $\beta$ );  $J_{1\alpha,2}$  = 3.8 Hz,  $J_{1\beta,2}$  = 8.0 Hz.

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , Epiisomaltose):**  $\delta$  = 5.18 (d, 1 H, 1-H $\alpha$ ), 4.99 (m, 2 H, 1'-H $\alpha$ , 1'-H $\beta$ ), 4.92 (d, 1 H, 1-H $\beta$ );  $J_{1\alpha,2}$  = 1. Hz,  $J_{1\beta,2}$  = 0.8 Hz.

$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$  342.3

**6-O-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-D-mannose (222)****Epigentibiose****Epimerisierung von D-Gentibiose nach AAV 6**

Ansatz: 170 mg (0.5 mmol) D-Gentibiose in 40 mL MeOH

55 mg (0.5 mmol)  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

101 mg (1 mmol)  $\text{Et}_3\text{N}$

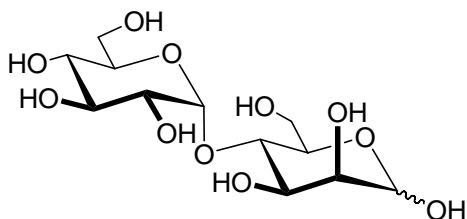
60 min

Ausbeute: 170 mg (0.5 mmol) eines gelben Sirups aus 74% Gentibiose, 26 % Epigentibiose ( $\alpha/\beta$  ca. 2:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , Gentibiose):**  $\delta$  = 5.23 (d, 1 H, 1- $\text{H}\alpha$ ), 4.66 (d, 1 H, 1- $\text{H}\beta$ ), 4.52 (m, 2 H, 1'- $\text{H}\alpha$ , 1'- $\text{H}\beta$ );  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{1\alpha,2} = 3.8$  Hz,  $J_{1\beta,2} = 8.0$  Hz.

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , Epigentibiose):**  $\delta$  = 5.18 (d, 1 H, 1- $\text{H}\alpha$ ), 4.91 (s, 1 H, 1- $\text{H}\beta$ ), 4.52 (m, 2 H, 1'- $\text{H}\alpha$ , 1'- $\text{H}\beta$ );  $J_{1\alpha,2} = 1.7$  Hz,  $J_{1\beta,2} = 1.1$  Hz.

$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$  342.3

**4-O-( $\alpha$ -D-Glucopyranosyl)-D-mannose (223)****Epimaltose****Epimerisierung von D-Maltose nach AAV 6**

Ansatz: 1.8 g (5 mmol) D-Maltose in 240 mL MeOH  
555 mg (5 mmol)  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$   
1.02 g (10 mmol)  $\text{Et}_3\text{N}$   
20 min

Ausbeute: 1.8 g (5 mmol) eines gelben Sirups aus 60% Maltose, 35 % Epimaltose ( $\alpha/\beta$  ca. 2.7:1), 5% Glucose/Mannose

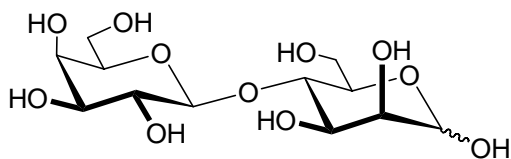
**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , Maltose):**  $\delta = 5.35$  (d, 2 H,  $1'\text{-H}\alpha$ ,  $1'\text{-H}\beta$ ), 5.17 (d, 1 H,  $1\text{-H}\alpha$ ), 4.59 (d, 1 H,  $1\text{-H}\beta$ );  $J_{1',2'} = 3.9$  Hz,  $J_{1\alpha,2} = 3.8$  Hz,  $J_{1\beta,2} = 8.0$  Hz.

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , Epimaltose):**  $\delta = 5.29$  (d, 1 H,  $1'\text{-H}\alpha$ ), 5.28 (d, 1 H,  $1'\text{-H}\beta$ ), 5.12 (d, 1 H,  $1\text{-H}\alpha$ ), 4.85 (d, 1 H,  $1\text{-H}\beta$ );  $J_{1',2'} = 3.9$  Hz,  $J_{1\alpha,2} = 1.0$  Hz,  $J_{1\beta,2} = 0.8$  Hz.

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , Glucose):**  $\delta = 5.19$  (d, 1 H,  $1\text{-H}\alpha$ ), 4.58 (d, 1 H,  $1\text{-H}\beta$ );  $J_{1\alpha,2} = 4.0$  Hz,  $J_{1\beta,2} = 7.9$  Hz.

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , Mannose):**  $\delta = 4.84$  (d,  $1\text{-H}\alpha$ , Mannose);  $J_{1\beta,2} = 7.9$  Hz.

$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$  342.3

**4-O-( $\beta$ -D-Galactopyranosyl)-D-mannose (224)****Epilactose****Epimerisierung von D-Lactose nach AAV 6**

Ansatz: 1.44 g (4 mmol) D-Lactose in 800 mL MeOH

444 mg (4 mmol)  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

816 mg (8 mmol)  $\text{Et}_3\text{N}$

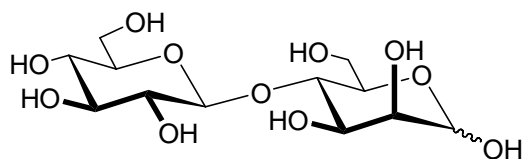
40 min

Ausbeute: 1.44 g (4 mmol) eines gelben Sirups aus 70% Lactose, 30 % Epilactose ( $\alpha/\beta$  ca. 2:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , Lactose):**  $\delta = 5.23$  (d, 1 H, 1- $\text{H}\alpha$ ), 4.67 (d, 1 H, 1- $\text{H}\beta$ ), 4.47 (d, 2 H, 1'- $\text{H}\alpha$ , 1'- $\text{H}\beta$ );  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{1\alpha,2} = 3.8$  Hz,  $J_{1\beta,2} = 8.0$  Hz.

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , Epilactose):**  $\delta = 5.19$  (d, 1 H, 1- $\text{H}\alpha$ ), 4.92 (s, 1 H, 1- $\text{H}\beta$ ), 4.46 (d, 2 H, 1'- $\text{H}\alpha$ , 1'- $\text{H}\beta$ );  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{1\alpha,2} = 1.7$  Hz.

$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$  342.3

**4-O-( $\beta$ -D-Glucopyranosyl)-D-mannose (225)****Epicellobiose****Epimerisierung von D-Cellobiose nach AAV 6**

Ansatz: 170 mg (0.5 mmol) D-Cellobiose in 40 mL MeOH

55 mg (0.5 mmol)  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

101 mg (1 mmol)  $\text{Et}_3\text{N}$

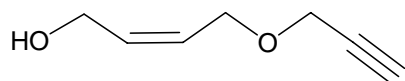
24 h

Ausbeute: 170 mg (0.5 mmol) eines gelben Sirups aus 75% Cellobiose, 15 % Epicellobiose ( $\alpha/\beta$  ca. 2.5:1), 10 % Glucose

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , Cellobiose):**  $\delta$  = 5.23 (d, 1 H, 1- $\text{H}\alpha$ ), 4.67 (d, 1 H, 1- $\text{H}\beta$ ), 4.47 (d, 2 H, 1'- $\text{H}\alpha$ , 1'- $\text{H}\beta$ );  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{1\alpha,2} = 3.8$  Hz,  $J_{1\beta,2} = 8.0$  Hz.

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , Epicellobiose):**  $\delta$  = 5.18 (d, 1 H, 1- $\text{H}\alpha$ ), 4.92 (s, 1 H, 1- $\text{H}\beta$ ), 4.52 (d, 2 H, 1'- $\text{H}\alpha$ , 1'- $\text{H}\beta$ );  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{1\alpha,2} = 1.7$  Hz.

$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$  342.3

**(Z)-4-(Prop-2-ynyloxy)but-2-en-1-ol (226)**

79.3 g (900 mmol) (Z)-But-2-en-1,4-diol werden unter Stickstoff in 80 mL THF gelöst und auf 0°C abgekühlt. Zu der gelblich klaren Lösung werden 7.8 g (300 mL) NaH (95% w/w),



suspendiert in 80 mL THF, zugegeben. Es bildet sich eine orangegelbe Suspension. Nach Abklingen der Wasserstoffentwicklung wird auf Raumtemperatur erwärmt und 44.6 g (300 mmol) Propargylbromid (80% w/w in Toluol), in 60 mL THF suspendiert, langsam zugegeben. Die orangebraune Suspension wird 17 h unter Rückfluß erhitzt, bis vollständiger Umsatz zu beobachten ist. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird mit Wasser verdünnt, mit Et<sub>2</sub>O (3x30 mL) gewaschen, die organische Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösemittel eingeeengt. Das braune ölige Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (AcOEt/Cyclohexan/ 4:1-2:1) gereinigt. Nach Entfernen des Lösemittels im Vakuum werden 27.2 g (72% bezogen auf Butendiol) eines hellgelben Öls erhalten.

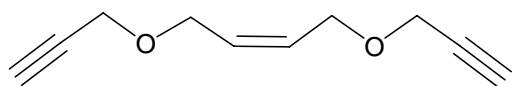
$R_f = 0.28$  (AcOEt/Cyclohexan 1:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 5.80 (m, 1 H, 2-H), 5.62 (m, 1 H, 3-H), 4.16 (d, 2 H, 1-Ha, 1-Hb), 4.10 (m, 4 H, 4-Ha, 4-Hb, 5-Ha, 5-Hb), 2.75 (s, 1 H, O-H), 2.45 (t, 1 H, 7-H);  $J_{1,2} = 6.2$  Hz,  $J_{3,7} = 2.2$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (75MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 133.3 (C-2), 127.2 (C-3), 79.5 (C-6), 74.9 (C-7), 65.0 (C-1), 58.5 (C-5), 57.3 (C-4).

C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>                      126.15

**(Z)-1,4-Bis-(prop-2-ynyloxy)but-2-en (227)**



26.4 g (300 mmol) (Z)-But-2-en-1,4-diol werden unter Stickstoff in 80 mL THF gelöst und auf 0°C abgekühlt. Zu der gelblich klaren Lösung werden 15.5 g (600 mL) NaH (95% w/w), suspendiert in 80 mL THF, zugegeben. Es bildet sich eine orangegelbe Suspension. Nach Abklingen der Wasserstoffentwicklung wird auf Raumtemperatur erwärmt und 89.2 g (600 mmol) Propargylbromid (80% w/w in Toluol), in 60 mL THF suspendiert, langsam

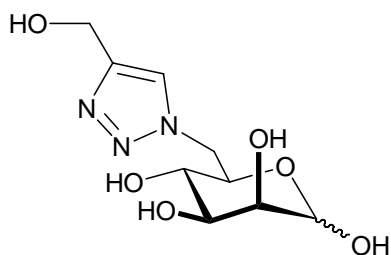
zugegeben. Die orangebraune Suspension wird 20 h unter Rückfluß erhitzt, bis vollständiger Umsatz zu beobachten ist. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird mit Wasser verdünnt, mit Et<sub>2</sub>O (3x30 mL) gewaschen, die organische Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösemittel eingengt. Das braune ölige Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (AcOEt/Cyclohexan/ 4:1-2:1) gereinigt. Nach Entfernen des Lösemittels im Vakuum werden 39.8 g (81% bezogen auf Butendiol) eines gelben Öls erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 5.77 (m, 2 H, 2-H, 3-H), 4.18 (m, 2 H, 5-Ha, 5-Hb), 4.16 (d, 4 H, 1-Ha, 1-Hb, 4-Ha, 4-Hb), 2.46 (t, 1 H, 7-H);  $J_{1,2}$  = 2.4 Hz,  $J_{5,7}$  = 2.4 Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 129.8 (C-2, C-3), 80.0 (C-6), 75.0 (C-7), 65.5 (C-5), 57.6 (C-1, C-4).

C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>                      164.20

#### 6-Desoxy-6-((4-hydroxymethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-D-mannose (228)



[2+3]-Cycloaddition nach AAV 8

Ansatz:            253 mg (1.25 mmol) 6-Azido-mannose **206**  
                      5 mL Wasser  
                      168 mg (3 mmol) Propargylalkohol  
                      0.5 mL (0.5 mmol) 1 M Na-Ascorbat-Lösung  
                      0.25 mL (0.25 mmol) 1 M CuSO<sub>4</sub>-Lösung  
                      2 h

Ausbeute:        173 mg (0.66 mmol, 63%) als farbloser Sirup nach Chromatographie über Flash-Kieselgel (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 4:1-2:1)

$R_f = 0.44$  (EtOH/NH<sub>3</sub> 3:1)

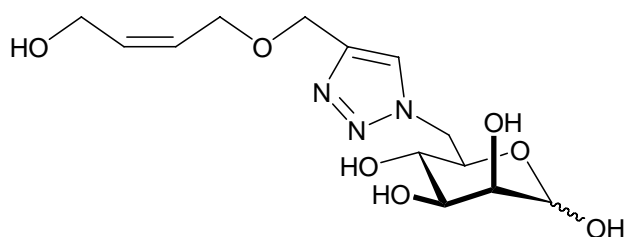
$\alpha/\beta$  1.3:1

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 7.84 (s, 1 H, 7-H $\beta$ ), 7.83 (s, 1 H, 7-H $\alpha$ ), 4.92 (d, 1 H, 1-H $\alpha$ ), 4.96 (dd, 2 H, 6-Ha $\alpha$ , 6-Ha $\beta$ ), 4.61 (d, 1 H, 1-H $\beta$ ), 4.55 (s, 2 H, 9-Ha $\alpha$ , 9-Hb $\alpha$ ), 4.53 (s, 2 H, 9-Ha $\beta$ , 9-Hb $\beta$ ), 4.44 (dd, 1 H, 6-Hb $\alpha$ ), 4.42 (dd, 1 H, 6-Hb $\beta$ ), 3.93 (ddd, 1 H, 5-H $\alpha$ ), 3.73 (dd, 1 H, 2-H $\beta$ ), 3.72 (dd, 1 H, 2-H $\beta$ ), 3.65 (dd, 1 H, 3-H $\alpha$ ), 3.55 (ddd, 1 H, 5-H $\beta$ ) 3.47 (dd, 1 H, 3-H $\beta$ ), 3.32 (dd, 1 H, 4-H $\alpha$ ), 3.26 (dd, 1 H, 4-H);  $J_{1\alpha,2\alpha} = 1.7$  Hz,  $J_{1\beta,2\beta} = 2.5$  Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha} = 3.4$  Hz,  $J_{2\beta,3\beta} = 3.2$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.7$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9$  Hz,  $J_{5,6b\alpha} = 7.8$  Hz,  $J_{5,6\beta} = 7.7$  Hz,  $J_{6a,6b\alpha} = 14.5$  Hz,  $J_{6a,6b\beta} = 14.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 147.1 (C-8 $\alpha$ , C-8 $\beta$ ), 125.6 (C-7 $\beta$ ), 125.4 (C-7 $\alpha$ ), 94.5 (C-1 $\alpha$ ), 94.2 (C-1 $\beta$ ), 74.5 (C-5 $\beta$ ), 73.2 (C-3 $\beta$ ), 71.4 (C-2 $\beta$ ), 71.0 (C-2 $\alpha$ ), 70.9 (C-5 $\alpha$ ), 70.5 (C-3 $\alpha$ ), 68.3 (C-4 $\alpha$ ), 68.0 (C-4 $\beta$ ), 55.0 (C-9 $\alpha$ , C-9 $\beta$ ), 49.3 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ).

C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> 261.23

**6-Desoxy-6-(4-(((Z)-4-hydroxybut-2-enyloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-D-mannose (229)**



[2+3]-Cycloaddition nach **AAV 8**

Ansatz: 200 mg (0.98 mmol) 6-Azido-mannose **206**  
1.5 mL Wasser  
1.5 mL *t*-BuOH  
252 mg (2 mmol) Alkoholether **226**  
0.4 mL (0.4 mmol) 1 M Na-Ascorbat-Lösung  
0.2 mL (0.2 mmol) 1 M CuSO<sub>4</sub>-Lösung

2 h

Ausbeute: 200 mg (0.6 mmol, 62%) als gelber Sirup nach Chromatographie über Flash-Kieselgel (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 5:1-4:1)

$R_f = 0.26$  (EtOH/NH<sub>3</sub> 3:1)

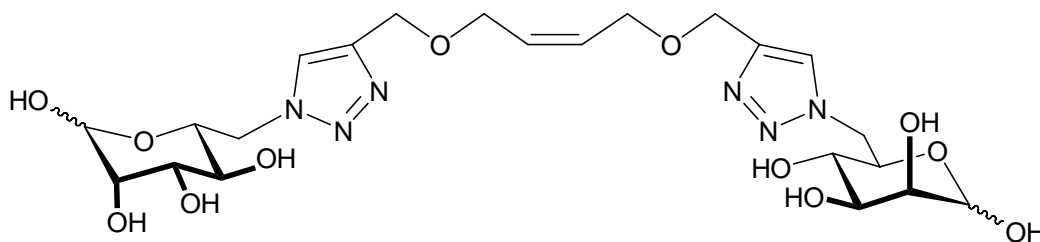
$\alpha/\beta$  1.3:1

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 8.04 (s, 1 H, 7-H $\beta$ ), 8.03 (s, 1 H, 7-H $\alpha$ ), 5.78 (m, 2 H, 11-H $\alpha$ , 11-H $\beta$ ), 5.67 (m, 2 H, 12-H $\alpha$ , 12-H $\beta$ ), 5.07 (d, 1 H, 1-H $\alpha$ ), 4.82 (dd, 1 H, 6-H $\alpha\beta$ ), 4.78 (d, 1 H, 1-H $\beta$ ), 4.78 (dd, 1 H, 6-H $\alpha\alpha$ ), 4.62 (s, 4 H, 9-H $\alpha\alpha$ , 9-H $\beta\alpha$ , 9-H $\alpha\beta$ , 9-H $\beta\beta$ ), 4.60 (dd, 1 H, 6-H $\beta\alpha$ ), 4.57 (dd, 1 H, 6-H $\beta\beta$ ), 4.14 (d, 4 H, 10-H $\alpha\alpha$ , 10-H $\beta\alpha$ , 10-H $\alpha\beta$ , 10-H $\beta\beta$ ), 4.11 (d, 4 H, 13-H $\alpha\alpha$ , 13-H $\beta\alpha$ , 13-H $\alpha\beta$ , 13-H $\beta\beta$ ), 4.08 (ddd, 1 H, 5-H $\alpha$ ), 3.88 (dd, 1 H, 2-H $\beta$ ), 3.86 (dd, 1 H, 2-H $\alpha$ ), 3.80 (dd, 1 H, 3-H $\alpha$ ), 3.65 (ddd, 1 H, 5-H $\beta$ ), 3.61 (dd, 1 H, 3-H $\beta$ ), 3.46 (dd, 1 H, 4-H $\alpha$ ), 3.41 (dd, 1 H, 4-H);  $J_{1\alpha,2\alpha} = 1.7$  Hz,  $J_{1\beta,2\beta} = 2.5$  Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha} = 3.4$  Hz,  $J_{2\beta,3\beta} = 3.2$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.7$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9$  Hz,  $J_{5,6\beta\alpha} = 7.8$  Hz,  $J_{5,6\beta} = 7.7$  Hz,  $J_{6\alpha,6\beta\alpha} = 14.5$  Hz,  $J_{6\alpha,6\beta\beta} = 14.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C -NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 144.2 (C-8 $\alpha$ , C-8 $\beta$ ), 133.0 (C-11 $\alpha$ , C-11 $\beta$ ), 127.5 (C-12 $\alpha$ , C-12 $\beta$ ), 126.6 (C-7 $\alpha$ ), 126.5 (C-7 $\beta$ ), 94.5 (C-1 $\alpha$ ), 94.2 (C-1 $\beta$ ), 74.5 (C-5 $\beta$ ), 73.2 (C-3 $\beta$ ), 71.4 (C-2 $\beta$ ), 71.0 (C-2 $\alpha$ ), 70.9 (C-5 $\alpha$ ), 70.5 (C-3 $\alpha$ ), 68.3 (C-4 $\alpha$ ), 68.0 (C-4 $\beta$ ), 65.5 (C-13 $\alpha$ , C-13 $\beta$ ), 62.5 (C-9 $\alpha$ , C-9 $\beta$ ), 57.5 (C-10 $\alpha$ , C-10 $\beta$ ), 51.5 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ).

C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> 331.32

**6-((4-(((Z)-((6-Desoxy-mannos-6-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)but-2-enyloxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-D-mannose (230)**



**[2+3]-Cycloaddition nach AAV 8**

Ansatz: 467 mg (2.28 mmol) 6-Azido-mannose **206**

4 mL Wasser

4 mL *t*-BuOH

187 mg (1.14 mmol) Diether **227**

0.912 mL (0.912 mmol) 1 M Na-Ascorbat-Lösung

0.456 mL (0.456 mmol) 1 M CuSO<sub>4</sub>-Lösung

2 h

Ausbeute: 340 mg (0.6 mmol, 52%) als gelber Sirup nach Chromatographie über Flash-Kieselgel (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 5:1-1:1)

$R_f = 0.26$  (EtOH/NH<sub>3</sub> 3:1)

$\alpha/\beta$  1.3:1

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 8.03 (s, 1 H, 7-H $\beta$ ), 8.02 (s, 1 H, 7-H $\alpha$ ), 5.77 (m, 4 H, 11-H $\alpha$ , 11-H $\beta$ , 12-H $\alpha$ , 12-H $\beta$ ), 5.07 (d, 1 H, 1-H $\alpha$ ), 4.80 (dd, 1 H, 6-H $\alpha\beta$ ), 4.78 (d, 2 H, 1-H $\beta$ , 6-H $\alpha\alpha$ ), 4.59 (s, 4 H, 9-H $\alpha\alpha$ , 9-H $b\alpha$ , 9-H $\alpha\beta$ , 9-H $b\beta$ ), 4.58 (dd, 1 H, 6-H $b\alpha$ ), 4.57 (dd, 1 H, 6-H $b\beta$ ), 4.10 (d, 8 H, 10-H $\alpha\alpha$ , 10-H $b\alpha$ , 10-H $\alpha\beta$ , 10-H $b\beta$ , 13-H $\alpha\alpha$ , 13-H $b\alpha$ , 13-H $\alpha\beta$ , 13-H $b\beta$ ), 4.08 (ddd, 1 H, 5-H $\alpha$ ), 3.88 (dd, 1 H, 2-H $\beta$ ), 3.86 (dd, 1 H, 2-H $\alpha$ ), 3.80 (dd, 1 H, 3-H $\alpha$ ), 3.65 (ddd, 1 H, 5-H $\beta$ ), 3.61 (dd, 1 H, 3-H $\beta$ ), 3.48 (dd, 1 H, 4-H $\alpha$ ), 3.42 (dd, 1 H, 4-H $\beta$ );  $J_{1\alpha,2\alpha} = 1.7$  Hz,  $J_{1\beta,2\beta} = 2.5$  Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha} = 3.4$  Hz,  $J_{2\beta,3\beta} = 3.2$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.7$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9$  Hz,  $J_{5,6b\alpha} = 7.8$  Hz,  $J_{5,6\beta} = 7.7$  Hz,  $J_{6a,6b\alpha} = 14.5$  Hz,  $J_{6a,6b\beta} = 14.4$  Hz.

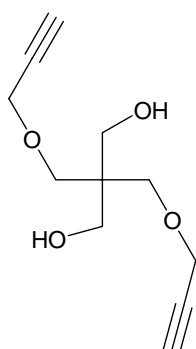
**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 144.2 (C-8 $\alpha$ , C-8 $\beta$ ), 129.8 (C-11 $\alpha$ , C-11 $\beta$ , C-12 $\alpha$ , C-12 $\beta$ ), 126.6 (C-7 $\alpha$ ), 126.5 (C-7 $\beta$ ), 94.5 (C-1 $\alpha$ ), 94.2 (C-1 $\beta$ ), 74.6 (C-5 $\beta$ ), 73.2 (C-3 $\beta$ ), 71.4 (C-2 $\beta$ ), 71.1 (C-2 $\alpha$ ), 70.9 (C-5 $\alpha$ ), 70.5 (C-3 $\alpha$ ), 68.3 (C-4 $\alpha$ ), 68.0 (C-4 $\beta$ ), 65.6 (C-10 $\alpha$ , C-10 $\beta$ , C-13 $\alpha$ , C-13 $\beta$ ), 62.6 (C-9 $\alpha$ , C-9 $\beta$ ), 51.5 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ).

$\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_{12}$  574.54

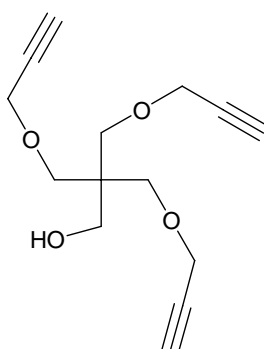
**2,2-Bis((prop-2-ynyloxy)methyl)propan-1,3-diol (231)**

**3-(Prop-2-ynyloxy)-2,2-bis((prop-2-ynyloxy)methyl)propan-1-ol (232)**

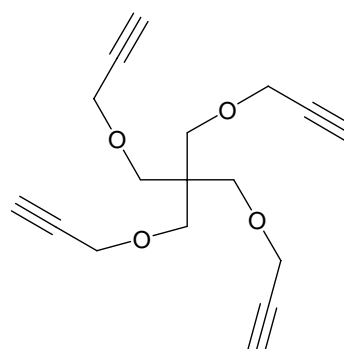
**3-(3-(Prop-2-ynyloxy)-2,2-bis((prop-2-ynyloxy)propoxy)prop-1-yn (233)**



**231**



**232**



**233**

Ein Gemisch aus 2.723 g (20 mmol) Pentaerythrit, 8.976 g (160 mmol) gemörsertem KOH und 18.2 g (120 mmol, 1.5 Äq./OH-Gruppe) Propargylalkohol (80% in Toluol) werden in 100 mL DMSO für 24 h bei 35 °C erwärmt. Anschließend wird mit 100 mL Wasser verdünnt, mit AcOEt (3x100 mL) extrahiert, die organischen Phasen vereinigt, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösemittel in Vakuum eingengt. Das erhaltene Reaktionsgemisch wird über Flash-Kieselgel (AcOEt/Cyclohexan 1:2-1:1-2:1) aufgereinigt. 291 mg (1.37 mmol, 7%) des Diethers **231**, 1.23 g (4.9 mmol, 25%) des Triethers **232** und 579 mg (2.0 mmol, 11%) des Tetraethers **233** werden als gelbe Sirupe erhalten.

### **231**

$R_f$  = 0.44 (AcOEt/Cyclohexan 2:1)

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 4.06 (d, 2 H, 3-Ha, 3-Hb), 3.47 (s, 2 H, 2-Ha, 2-Hb), 2.33 (dd, 1 H, 5-H);  $J_{3,5}$  = 2.3 Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 80.4 (C-4), 74.4 (C-5), 69.4 (C-2), 59.1 (C-3), 45.2 (C-1).

$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_4$  212.24

## 232

$R_f$  = 0.27 (AcOEt/Cyclohexan 2:1)

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 4.06 (d, 2 H, 3-Ha, 3-Hb), 3.62 (bs, 2 H, 6-Ha, 6-Hb), 3.49 (s, 2 H, 2-Ha, 2-Hb), 2.35 (dd, 1 H, 5-H);  $J_{3,5}$  = 2.3 Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 80.1 (C-4), 74.5 (C-5), 70.6 (C-2), 65.4 (C-6), 59.2 (C-3), 45.1 (C-1).

$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_4$  250.29

## 233

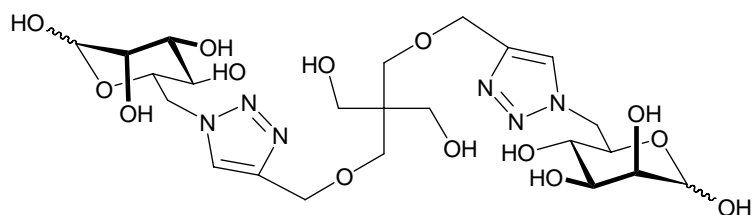
$R_f$  = 0.08 (AcOEt/Cyclohexan 2:1)

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 4.08 (d, 2 H, 3-Ha, 3-Hb), 3.62 (bs, 2 H, 6-Ha, 6-Hb), 3.52 (s, 2 H, 2-Ha, 2-Hb), 2.38 (dd, 1 H, 5-H);  $J_{3,5}$  = 2.3 Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 79.8 (C-4), 75.2 (C-5), 71.3 (C-2), 64.7 (C-6), 59.2 (C-3), 45.3 (C-1).

$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_4$  288.34

**2,2-Bis(((1-(6-Desoxy-D-mannopyranos-6-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)methyl)propan-1,3-diol (234)**



[2+3]-Cycloaddition nach **AAV 8**

Ansatz: 244 mg (1.2 mmol) 6-Azido-mannose **206**

2 mL Wasser

2 mL *t*-BuOH

90 mg (0.60 mmol) Diether **231**

0.5 mL (0.5 mmol) 1 M Na-Ascorbat-Lösung

0.25 mL (0.25 mmol) 1 M CuSO<sub>4</sub>-Lösung

20 h

Ausbeute: 105 mg (0.17 mmol, 29%) als farbloser Sirup nach Chromatographie über Aktivkohle/Kieselgur 1:1 mit einem EtOH-Gradienten (0-50%).

$R_f = 0.41$  (EtOH/NH<sub>3</sub> 3:1)

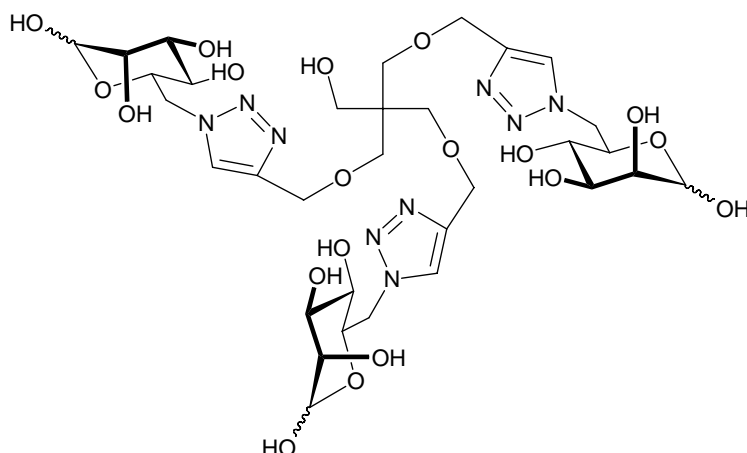
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 8.28 (s, 2 H, 7-H $\beta$ , 7-H $\alpha$ ), 5.02 (s, 1 H, 1-H $\alpha$ ), 4.78-4.68 (m, 3 H, 1-H $\beta$ , 6-H $\alpha$ , 6-H $\beta$ ), 4.55 (m, 2 H, 6-H $\beta$ , 6-H $\alpha$ ), 4.03 (m, 1 H, 5-H $\alpha$ ), 3.82 (d, 1 H, 2-H $\beta$ ), 3.81 (dd, 1 H, 2-H $\alpha$ ), 3.74 (dd, 1 H, 3-H $\alpha$ ), 3.62-3.53 (m, 2 H, 3-H $\beta$ , 5-H $\beta$ ), 3.50-3.35 (m, 10 H, 4-H $\alpha$ , 4-H $\beta$ , 10-H $\alpha$ , 10-H $\beta$ , 9-H $\alpha$ , 9-H $\beta$ , 12-H $\alpha$ , 12-H $\beta$ ).

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 144.5 (C-8 $\alpha$ , C-8 $\beta$ ), 125.7 (C-7 $\beta$ ), 125.5 (C-7 $\alpha$ ), 93.4 (C-1 $\alpha$ ), 93.0 (C-1 $\beta$ ), 73.3 (C-5 $\beta$ ), 72.1 (C-3 $\beta$ ), 70.3 (C-2 $\beta$ ), 69.8 (C-2 $\alpha$ ), 69.4 (C-3 $\alpha$ , C-5 $\alpha$ ), 68.2 (C-10 $\alpha$ , C-10 $\beta$ ), 67.3 (C-4 $\alpha$ ), 67.0 (C-4 $\beta$ ), 60.2 (C-9 $\alpha$ , C-9 $\beta$ ), 50.8 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 44.3 (C-11).

C<sub>23</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>O<sub>14</sub> 622.58



**3-((1-(6-Desoxy-D-mannopyranos-6-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)-2,2-bis(((6-desoxy-D-mannopyranos-6-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)methyl)propan-1-ol (235)**



**[2+3]-Cycloaddition nach AAV 8**

Ansatz: 284 mg (1.4 mmol) 6-Azido-mannose **206**

2 mL Wasser

4 mL THF

118 mg (0.47 mmol) Triether **232**

1.5 mL (1.5 mmol) 1 M Na-Ascorbat-Lösung

0.5 mL (0.5 mmol) 1 M CuSO<sub>4</sub>-Lösung

20 h

Ausbeute: 180 mg (0.12 mmol, 44%) als farbloser Sirup nach Chromatographie über Aktivkohle/Kieselgur 1:1 mit einem EtOH-Gradienten (0-50%).

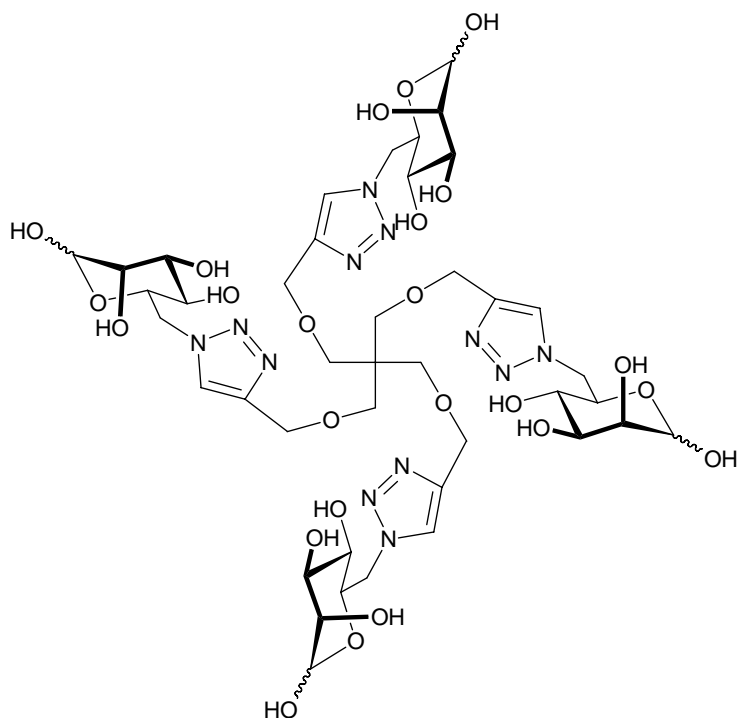
$R_f = 0.24$  (EtOH/NH<sub>3</sub> 3:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 7.85 (s, 1 H, 7-H $\beta$ ), 7.83 (s, 1 H, 7-H $\alpha$ ), 4.93 (d, 1 H, 1-H $\alpha$ ), 4.75 (m, 2 H, 6-H $\alpha$ , 6-H $\beta$ ), 4.71 (d, 1 H, 1-H $\beta$ ), 4.43 (m, 2 H, 6-H $\beta$ , 6-H $\alpha$ ), 4.37 (s, 4 H, 9-H $\alpha$ , 9-H $\beta$ , 9-H $\alpha$ , 9-H $\beta$ ), 3.92 (ddd, 1 H, 5-H $\alpha$ ), 3.74 (dd, 1 H, 2-H $\beta$ ), 3.73 (dd, 1 H, 2-H $\alpha$ ), 3.67 (dd, 1 H, 3-H $\alpha$ ), 3.51-3.44 (m, 2 H, 3-H $\beta$ , 5-H $\beta$ ), 3.34 (dd, 1 H, 4-H $\alpha$ ), 3.30 (s, 2 H, 12-H $\alpha$ , 12-H $\beta$ ), 3.29 (dd, 1 H, 4-H $\beta$ ), 3.24 (s, 2 H, 10-H $\alpha$ , 10-H $\beta$ );  $J_{1\alpha,2\alpha} = 1.7$  Hz,  $J_{1\beta,2\beta} = 2.4$  Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha} = 3.4$  Hz,  $J_{2\beta,3\beta} = 3.2$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.7$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9$  Hz,  $J_{4\alpha,5\alpha} = 9.8$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 144.5 (C-8 $\alpha$ , C-8 $\beta$ ), 126.4 (C-7 $\beta$ ), 126.3 (C-7 $\beta$ ), 94.5 (C-1 $\alpha$ ), 94.2 (C-1 $\beta$ ), 74.6 (C-5 $\beta$ ), 73.2 (C-3 $\beta$ ), 71.4 (C-2 $\beta$ ), 71.1 (C-2 $\alpha$ ), 70.9 (C-5 $\alpha$ ), 70.5 (C-3 $\alpha$ ), 69.0 (C-10 $\alpha$ , C-10 $\beta$ ), 68.4 (C-4 $\alpha$ ), 68.1 (C-4 $\beta$ ), 63.9 (C-9 $\alpha$ , C-9 $\beta$ ), 51.5 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 45.1 (C-11).

$\text{C}_{32}\text{H}_{51}\text{N}_9\text{O}_{19}$       865.80

**4-((3-(6-Desoxy-D-mannopyranos-6-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)-2,2-bis(((6-desoxy-D-mannopyranos-6-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)methyl)propoxy)methyl-1-(6-desoxy-D-mannopyranos-6-yl)-1*H*-1,2,3-triazol (236)**



[2+3]-Cycloaddition nach **AAV 8**

Ansatz:      570 mg (2.8 mmol) 6-Azido-mannose **206**  
               3 mL Wasser  
               8 mL THF  
               100 mg (0.36 mmol) Tetraether **233**  
               2 mL (2 mmol) 1 M Na-Ascorbat-Lösung  
               0.5 mL (0.5 mmol) 1 M  $\text{CuSO}_4$ -Lösung  
               2 d

Ausbeute: 315 mg (0.28 mmol, 79%) als farbloser Sirup nach Chromatographie über Aktivkohle/Kieselgur 1:1 mit einem EtOH-Gradienten (0-50%).

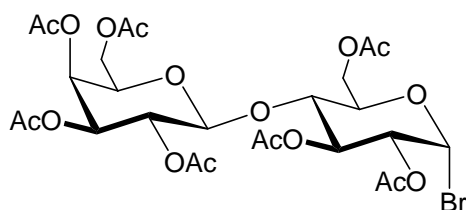
$R_f = 0.32$  (n-BuOH/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 8.00\text{--}7.94$  (m, 2 H, 7-H $\beta$ , 7-H $\alpha$ ), 5.01 (d, 1 H, 1-H $\alpha$ ), 4.80–4.72 (m, 3 H, 1-H $\beta$ , 6-H $\alpha$ , 6-H $\beta$ ), 4.57–4.45 (m, 6 H, 6-Hb $\alpha$ , 6-Hb $\beta$ , 9-H $\alpha$ , 9-Hb $\alpha$ , 9-H $\beta$ , 9-Hb $\beta$ ), 4.06 (ddd, 1 H, 5-H $\alpha$ ), 3.88 (dd, 1 H, 2-H $\beta$ ), 3.86 (dd, 1 H, 2-H $\alpha$ ), 3.80 (dd, 1 H, 3-H $\alpha$ ), 3.62 (m, 2 H, 3-H $\beta$ , 5-H $\beta$ ), 3.48 (dd, 1 H, 4-H $\alpha$ ), 3.42 (dd, 1 H, 4-H $\beta$ ), 3.34 (s, 2 H, 10-Ha, 10-Hb);  $J_{1\alpha,2\alpha} = 1.4$  Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha} = 3.4$  Hz,  $J_{2\beta,3\beta} = 3.2$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.7$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 144.7$ , 142.4 (C-8 $\alpha$ , C-8 $\beta$ ), 124.4 (C-7 $\alpha$ , C-7 $\beta$ ), 92.6 (C-1 $\alpha$ ), 92.3 (C-1 $\beta$ ), 72.7 (C-5 $\beta$ ), 71.3 (C-3 $\beta$ ), 69.5 (C-2 $\beta$ ), 69.2 (C-2 $\alpha$ ), 69.0 (C-5 $\alpha$ ), 68.6 (C-3 $\alpha$ ), 66.7 (C-10 $\alpha$ , C-10 $\beta$ ), 66.5 (C-4 $\alpha$ ), 66.2 (C-4 $\beta$ ), 62.0 (C-9 $\alpha$ , C-9 $\beta$ ), 49.6 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ), 42.8 (C-11).

$\text{C}_{41}\text{H}_{64}\text{N}_{12}\text{O}_{24}$  1109.01

### Hepta-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-lactosylbromid (237)



In einem 250 mL-Dreihalskolben werden 39.4 mL (529 mmol) Acetyl bromid vorgelegt und auf 0°C im Eisbad gekühlt. Unter heftigem Rühren werden zügig 22.3 g (61.9 mmol) Lactose-Monohydrat zugegeben. Zu der weißen Suspension werden anschließend 60 mL Eisessig zugegeben. Die weiße Suspension wird in den nächsten 15 min unter HBr-Gasentwicklung zu einer gelben klaren Lösung. Nach Abklingen der Gasentwicklung wird das Eisbad entfernt

und die Lösung noch 2 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei die Farbe der Lösung zu orange wechselt. Der Reaktionsverlauf wird dünnschichtchromatographisch kontrolliert.

Das Reaktionsgemisch wird mit Toluol verdünnt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck bei 23–25°C abgezogen. Das orangebraune, sirupartige Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt (AcOEt/Cyclohexan 1:2-1:1). Nach Einengen des Lösemittels werden 17.4 g (40%) Hepta-*O*-acetyl- $\alpha$ -lactosylbromid als farbloser Schaum erhalten.

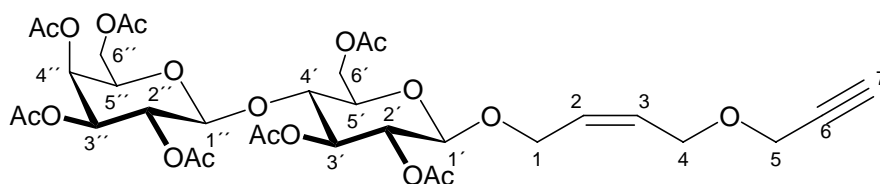
$R_f = 0.24$  (AcOEt/Cyclohexan 1 : 1)

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):**  $\delta = 6.53$  (d, 1 H, 1-H), 5.56 (dd, 1 H, 3-H), 5.36 (dd, 1 H, 4'-H), 5.13 (dd, 1 H, 2'-H), 4.97 (dd, 1 H, 3'-H), 4.77 (dd, 1 H, 2-H), 4.53 (d, 1 H, 1'-H), 4.50 (d, 1 H, H-6a), 4.15 (m, 4 H, 5-H, 6-Hb, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.90 (dd, 1 H, 4-H), 3.87 (dd, 1 H, 5'-H), 2.16, 2.14, 2.09, 2.07, 2.07, 2.06, 1.97 (s, 21 H, OAc);  $J_{1,2} = 4.0$  Hz,  $J_{2,3} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.4$  Hz,  $J_{3',4'} = 3.5$  Hz,  $J_{4',5'} = 0.9$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):**  $\delta = 170.7$ , 170.6, 170.5, 170.43, 170.3, 169.6, 169.3 (OAc), 101.2 (C-1'), 86.8 (C-1), 75.3 (C-5'), 73.4 (C-5), 71.4, 71.3, 71.2 (C-2, C-4, C-3'), 70.0 (C-3), 69.5 (C-2'), 67.0 (C-4'), 61.5, 61.3 (C-6, C-6'), 34.6, 27.1, 21.4, 21.2, 21.0, 20.9, 14.6 (OAc).

$\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{BrO}_{17}$  699.45

### 1-(Hepta-*O*-acetyl- $\beta$ -D-lactosyloxy)-4-(prop-2-ynyloxy(Z))but-2-en (238)



2.50 g (3.57 mmol) Hepta-*O*-acetyl- $\alpha$ -lactosylbromid **237**, 1.08 g (4.28 mmol)  $\text{Hg}(\text{CN})_2$  und 0.77 g (2.14 mmol)  $\text{HgBr}_2$  werden in 8 mL trockenem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  suspendiert und mit 3Å-

Molekularsieb versetzt. Anschließend werden zur Suspension 0.54 g (4.28 mmol) (Z)-4-(Prop-2-ynyloxy)-but-2-en-1-ol **226** zugegeben und über Nacht 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsverlauf wird dünnschichtchromatographisch kontrolliert. Der weiße Feststoff wird von der gelblichen Lösung filtriert, das Filtrat wird mit 10%iger KBr-Lösung gewaschen (3 x 5 mL), die organische Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, und das Lösemittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Das gelbe sirupartige Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt (AcOEt/Cyclohexan 1:1-1:2). 0.669 g (26%) des gewünschten Produkts werden als weißer Schaum erhalten.

Ein paralleler Ansatz wird anstatt mit Dichlormethan in 8 mL Acetonitril durchgeführt. Die Aufarbeitung unterscheidet sich insofern, dass erst das Acetonitril am Rotationsverdampfer abgezogen wird, der gelbe sirupartige Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und dann mit 10%iger KBr-Lösung gewaschen (3 x 5 mL) wird. Die weitere Aufarbeitung ist der vorher beschriebenen. Es werden 0.977 g (37%) des Produkts als weißer Schaum erhalten.

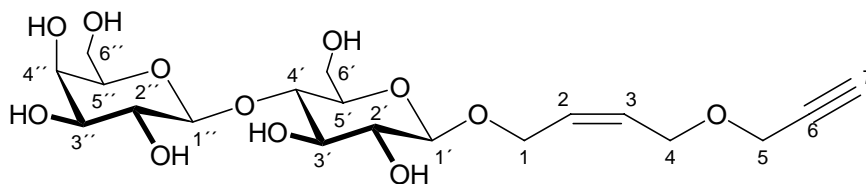
$R_f = 0.23$  (Cyclohexan : Essigester = 1 : 1)

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):**  $\delta$  = 5.67 (m, 1 H, 3''-H), 5.62 (m, 1 H, 2''-H), 5.28 (dd, 1 H, 4'-H), 5.12 (dd, 1 H, H-3), 5.04 (dd, 1 H, 2'-H), 4.89 (dd, 1 H, 3'-H), 4.83 (dd, 1 H, 2-H), 4.45 (d, 1 H, 1-H), 4.44 (m, 1 H, 6-Ha), 4.42 (d, 1 H, 1'-H), 4.23 (ddd, 2 H, 1''-Ha, 1''-Hb), 4.07 (d, 1 H, 6-Hb), 4.03 (m, 4 H, 4''-Ha, 4''-Hb, 5''-Ha, 5''-Hb), 3.81 (dd, 1 H, 5'-H), 3.74 (dd, 1 H, 4-H), 3.54 (dd, 1 H, 5-H), 2.41 (dd, 1 H, 7''-H), 2.08, 2.07, 2.00, 1.98, 1.97, 1.89 (s, 21 H, OAc);  $J_{1,2} = 8.0$  Hz,  $J_{2,3} = 9.5$  Hz,  $J_{3,4} = 9.5$  Hz,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.4$  Hz,  $J_{3',4'} = 3.5$  Hz,  $J_{4',5'} = 0.9$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):**  $\delta$  = 170.7, 170.6, 170.5, 170.4, 170.1, 170.0, 169.4 (OAc), 129.8 (C-3''), 129.3 (C-2''), 101.5 (C-1'), 99.5 (C-1), 79.9 (C-6''), 76.6 (C-4), 75.2 (C-7''), 73.3 (C-5), 73.0 (C-3), 72.0 (C-2), 71.4 (C-3'), 71.1 (C-5'), 69.5 (C-2'), 67.0 (C-4'), 65.3 (C-4''), 65.0 (C-1''), 62.4 (C-6), 61.2 (C-6'), 57.6 (C-5'), 21.4, 21.2, 21.2, 21.1, 21.0, 20.9, 14.6 (OAc).

C<sub>33</sub>H<sub>44</sub>O<sub>19</sub>

744.69

**1-( $\beta$ -D-Lactosyloxy)-4-(prop-2-ynyloxy(Z))but-2-en (239)**

Entschützung von **237** nach **AAV 5**

Ansatz: 0.927 g (1.24 mmol) **237** in 20 mL MeOH

Ausbeute: 0.409 g (71%) als farbloser Schaum

$R_f = 0.20$  (CHCl<sub>3</sub>/Methanol 2:1)

$R_f = 0.63$  (Butanol/Aceton /AcOH/Wasser 35:35:7:23)

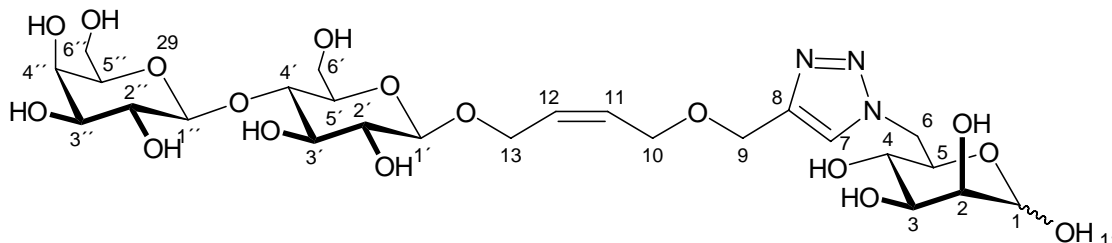
**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 500 MHz):**  $\delta = 5.81$  (m, 2 H, 2''-H, 3''-H), 4.45 (d, 1 H, 1-H), 4.40 (d, 1 H, 1'-H), 4.38 (m, 2 H, 1''-Ha, 1''-Hb), 4.17 (m, 4 H, 4''-Ha, 4''-Hb, 5''-Ha, 5''-Hb), 3.93 (dd, 1 H, 6-Ha), 3.87 (d, 1 H, 4'-H), 3.78-3.67 (m, 3 H, 6-Hb, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.66 (m, 1 H, 5'-H), 3.60 (m, 3 H, 3-H, 3'-H, 4-H), 3.53 (m, 1 H, 5-H), 3.49 (dd, 1 H, 2-H), 3.27 (dd, 1 H, 2'-H), 2.88 (dd, 1 H, 7''-H);  $J_{1,2} = 8.0$  Hz,  $J_{2,3} = 9.5$  Hz,  $J_{3,4} = 9.5$  Hz,  $J_{5,6a} = 2.1$  Hz,  $J_{6a,6b} = 12.4$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.4$  Hz,  $J_{3',4'} = 3.1$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 500 MHz, 300K):**  $\delta = 130.0$  (C-3''), 129.4 (C-2''), 103.7 (C-1'), 101.3 (C-1), 79.8 (C-6''), 78.8 (C-4), 76.6 (C-7''), 75.8 (C-5'), 75.2 (C-5), 74.8 (C-3'), 73.2 (C-2'), 73.0 (C-3), 71.4 (C-2), 69.0 (C-4'), 65.2 (C-4''), 65.1 (C-1'), 61.4 (C-6'), 60.5 (C-6), 57.43 (C-5').

C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>12</sub>

450.43

**4-(((Z)-4-( $\beta$ -D-Lactosyloxy)-but-2-enyloxy)methyl)-1-(6-desoxy-D-mannopyranos-6-yl)-1H-1,2,3-triazol (240)**



[2+3]-Cycloaddition nach **AAV 8**

Ansatz: 21 mg (0.1 mmol) 6-Azido-mannose **206**  
 47 mg (0.1 mmol) Lactosid **239**  
 1 mL Wasser  
 0.04 mL (0.04 mmol) 1 M Na-Ascorbat-Lösung  
 0.02 mL (0.02 mmol) 1 M CuSO<sub>4</sub>-Lösung  
 6 h

Ausbeute: 34 mg (0.05 mmol, 52%) als gelber Sirup nach Chromatographie über Aktivkohle/Kieselgur 1:1 mit einem EtOH Gradienten (0-65%)

$R_f = 0.41$  (EtOH/NH<sub>3</sub> 6:1)

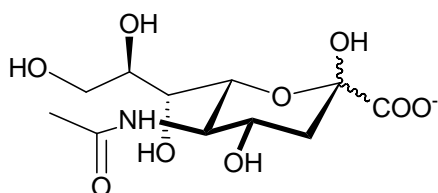
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 8.05 (s, 1 H, 7-H $\beta$ ), 8.04 (s, 1 H, 7-H $\alpha$ ), 5.80 (m, 4 H, 11-H, 12-H), 5.07 (d, 1 H, 1-H $\alpha$ ), 4.83 (dd, 1 H, 6-Ha $\beta$ ), 4.79 (m, 2 H, 1-H $\beta$ , 6-Ha $\alpha$ ), 4.62 (s, 2 H, 9-Ha, 9-Hb), 4.62 (dd, 1 H, 6-Hb $\alpha$ ), 4.57 (dd, 1 H, 6-Hb $\beta$ ), 4.44 (d, 1 H, 1'-H), 4.41 (d, 1 H, 1''-H), 4.34 (m, 4 H, 10-Ha, 10-Hb, 13-Ha, 13-Hb), 4.08 (ddd, 1 H, 5-H $\alpha$ ), 3.91 (dd, 1 H; 6'-Ha), 3.88 (d, 1 H, 4''-H), 3.86 (m, 2 H, 2-H $\alpha$ , 2-H $\beta$ ), 3.80 (dd, 1 H, 3-H $\alpha$ ), 3.78-3.69 (m, 3 H, 6'-Hb, 6''-Ha, 6''-Hb), 3.68 (m, 2 H, 5-H $\beta$ , 5''-H), 3.64-3.56 (m, 3 H, 3-H $\beta$ , 3'-H, 4'-H, 3''-H), 3.55 (m, 1 H, 2''-H), 3.47 (dd, 1 H, 4-H $\alpha$ ), 3.42 (dd, 1 H, 4-H $\beta$ ), 3.26 (dd, 1 H, 2''-H);  $J_{1\alpha,2\alpha} = 1.7$  Hz,  $J_{1\beta,2\beta} = 2.5$  Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha} = 3.4$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.7$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9$  Hz,  $J_{5,6\alpha} = 7.8$  Hz,  $J_{5,6\beta} = 7.7$  Hz,  $J_{6a,6b\alpha} = 14.5$  Hz,  $J_{6a,6b\beta} = 14.4$  Hz,  $J_{1',2'} = 8.0$  Hz,  $J_{1'',2''} = 7.8$  Hz,  $J_{2',3'} = 8.7$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 144.2 (C-8), 129.8, 129.6 (C-11, C-12), 126.5 (C-7), 103.3 (C-1'), 101.3 (C-1'), 94.5 (C-1 $\alpha$ ), 94.2 (C-1 $\beta$ ), 78.7 (C-4'), 75.8 (C-5'), 75.2 (C-5'), 74.8 (C-3'), 74.5 (C-5 $\beta$ ), 73.2 (C-3 $\beta$ , C-2'), 72.9 (C-3'), 71.4 (C-2 $\beta$ , 2'), 71.0 (C-2 $\alpha$ ), 70.9 (C-5 $\alpha$ ), 70.5 (C-3 $\alpha$ ), 69.0 (C-4'), 68.3 (C-4 $\alpha$ ), 68.0 (C-4 $\beta$ ), 65.6 (C-10 $\alpha$ , C-10 $\beta$ ), 65.1 (C-13 $\alpha$ , C-13 $\beta$ ), 62.7 (C-9 $\alpha$ , C-9 $\beta$ ), 61.4 (C-6'), 60.5 (C-6'), 51.5 (C-6 $\alpha$ , C-6 $\beta$ ).

$\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_{17}$  655.24

### 5-Acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure (241)

Neu5Ac



#### Enzymatische Umsetzung von ManNAc nach **AAV 9a**

Ansatz: 14.3 mg (0.065 mmol) ManNAc  
 70  $\mu\text{L}$  PEP- $\text{K}_1$ -Lösung (0.065 mmol)  
 2  $\mu\text{L}$  1 M  $\text{MnCl}_2$   
 22  $\mu\text{L}$  (1.8 U, 82 U/mL) Enzymlösung  
 0.123 mL Puffer  
 0.217 mL Gesamtvolumen, 300 mM Substratkonzentration  
 3.5 h

Ausbeute: 20 mg (0.065 mmol, 100 %) als farbloser Feststoff (freie Säure)

#### Enzymatische Umsetzung von ManNAc nach **AAV 9b**

Ansatz: 132 mg (0.6 mmol) ManNAc  
 594 mg (5.4 mmol, 9 äq) Na-Pyruvat



4  $\mu\text{L}$  1 M  $\text{NaN}_3$

43  $\mu\text{L}$  0.1 M Puffer

1 mg Aldoalse

0.3 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration

5 h, Raumtemperatur

Ausbeute: 152 mg (0.37 mmol, 62%) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.35$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

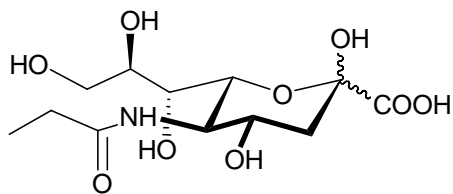
**$^1\text{H-NMR}$  (500MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 3.98$  (ddd, 1 H, 4-H), 3.93 (d, 1 H, 6-H), 3.86 (dd, 1 H, 5-H), 3.79 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.71 (ddd, 1 H, 8-H), 3.56 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.46 (dd, 1 H, 7-H), 3.15 (q, 2 H,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH}^+$ ), 2.16 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.77 (dd, 1 H, 3-Hb), 1.23 (t, 3 H,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH}^+$ );  $J_{3a,3b} = 12.7$  Hz,  $J_{3a,4} = 4.3$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.7$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 177.1$  (C-10), 175.2 (C-1), 96.8 (C-2), 70.8 (C-6), 70.7 (C-8), 69.0 (C-7), 67.7 (C-4), 63.7 (C-9), 52.7 (C-5), 39.8 ( $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH}^+$ ), 39.8 (C-3), 22.5 (C-11), 8.7 ( $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH}^+$ ).

$\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_9$  410.46

***N*-Propanoyl-5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto- non-2-ulopyranosonsäure  
(242)**

**Neu5Prop**



Enzymatische Umsetzung von ManNProp **163** nach **AAV 9a**

Ansatz: 1.2 g (5.1 mmol) ManNProp **163**  
 5.515 mL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (5.1 mmol)  
 136 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
 1.728 mL (142 U, 82 U/mL) Enzymlösung  
 9.621 mL Puffer  
 17 mL Gesamtvolumen, 300 mM Substratkonzentration  
 3.5 h

Ausbeute: 1.357 g (4.2 mmol, 83 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.38$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

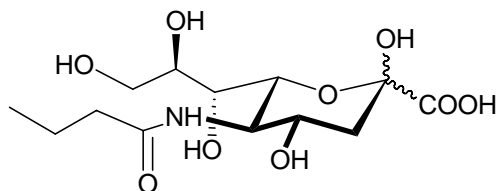
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 4.07$ - $4.01$  (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.89 (dd, 1 H, 5-H), 3.80 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.72 (ddd, 1 H, 8-H), 3.58 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.50 (dd, 1 H, 7-H), 2.31-2.25 (m, 3 H, 3-Ha, 11-Ha, 11-Hb), 1.85 (dd, 1 H, 3-Hb), 1.04 (t, 3 H, 12-H);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz,  $J_{11,12} = 7.7$  Hz.

**<sup>13</sup>C NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 179.2$  (C-10), 173.9 (C-1), 95.8 (C-2), 70.9 (C-6), 70.6 (C-8), 68.7 (C-7), 67.0 (C-4), 63.6 (C-9), 52.3 (C-5), 39.3 (C-3), 29.7 (C-11), 9.9 (C-12).

C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>9</sub> 323.30

***N*-Butanoyl-5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure**  
(243)

Neu5But



Enzymatische Umsetzung von ManNBut **164** nach AAV **9a**

Ansatz: 637 mg (2.56 mmol) ManNBut **164**  
2.856 mL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (2.56 mmol)  
103 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
2.67 mL (64 U, 24 U/mL) Enzymlösung  
7.171 mL Puffer  
12.8 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
4.5 h

Ausbeute: 480 mg (1.42 mmol, 56 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.47$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

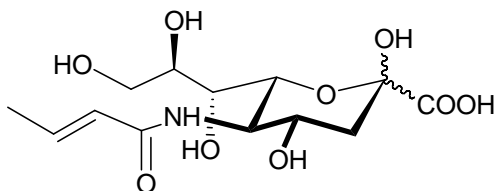
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 4.05$ -3.98 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.88 (dd, 1 H, 5-H), 3.77 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.69 (ddd, 1 H, 8-H), 3.56 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.49 (dd, 1 H, 7-H), 2.26 (dd, 1 H, 3-Ha), 2.22 (t, 2 H, 11-Ha, 11-Hb), 1.82 (dd, 1 H, 3-Hb), 1.56 (tt, 2 H, 12-Ha, 12-Hb), 0.87 (t, 3 H, 13-H);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz,  $J_{11,12} = 7.4$  Hz,  $J_{12,13} = 7.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 178.0$  (C-10), 173.4 (C-1), 95.4 (C-2), 70.5 (C-6), 70.2 (C-8), 68.4 (C-7), 66.7 (C-4), 63.2 (C-9), 52.0 (C-5), 39.4 (C-3), 38.0 (C-11), 19.1 (C-12), 12.9 (C-13).

C<sub>13</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>9</sub> 337.32

***N*-Crotonoyl-5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure  
(244)**

**Neu5Crot**



Enzymatische Umsetzung von ManCrot **165** nach **AAV 9a**

Ansatz: 360 mg (1.46 mmol) ManCrot **165**  
 1.573 mL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (1.46 mmol)  
 58 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
 468 µL (72 U, 156 U/mL) Enzymlösung  
 5.2 mL Puffer  
 7.3 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 4.5 h

Ausbeute: 110 mg (0.26 mmol, 75 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.38$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

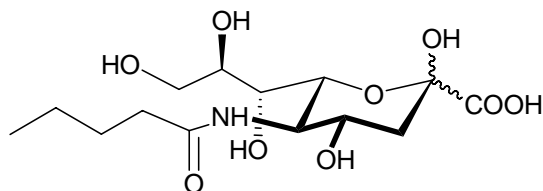
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 6.64$  (m, 1 H, 12-H), 5.86 (dd, 1 H, 11-H), 3.98-3.92 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.84 (dd, 1 H, 5-H), 3.68 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.59 (ddd, 1 H, 8-H), 3.45 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.37 (dd, 1 H, 7-H), 2.17 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.74 (dd, 1 H, 3-Hb), 1.72 (dd, 1 H, 13-H);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 173.8$  (C-10), 170.1 (C-1), 143.2 (C-12), 123.9 (C-11), 95.8 (C-2), 70.9 (C-6), 70.6 (C-8), 68.7 (C-7), 67.1 (C-4), 63.6 (C-9), 52.5 (C-5), 39.3 (C-3), 17.6 (C-13).

C<sub>13</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>9</sub> 337.32

***N*-Pentanoyl-5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure  
(245)**

**Neu5Pent**



Enzymatische Umsetzung von ManNPent **166** nach **AAV 9a**

Ansatz: 442 mg (1.68 mmol) ManNPent **166**  
 1.874 mL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (1.68 mmol)  
 136 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
 1.642 mL (40 U, 24 U/mL) Enzymlösung  
 5.416 mL Puffer  
 8.4 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 4.5 h

Ausbeute: 494 mg (1.41 mmol, 84 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.63$  (NH<sub>3</sub>/EtOH 1:1)

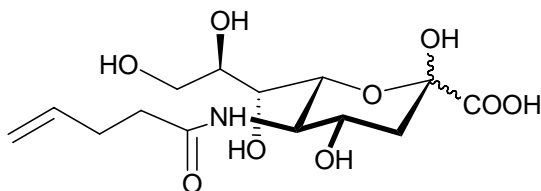
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 3.83-3.77 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.66 (dd, 1 H, 5-H), 3.57 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.48 (ddd, 1 H, 8-H), 3.34 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.28 (dd, 1 H, 7-H), 2.04 (m, 3 H, 3-Ha, 11-Ha, 11-Hb), 1.61 (dd, 1 H, 3-Hb), 1.32 (tt, 2 H, 12-Ha, 12-Hb), 1.06 (qt, 2 H, 13-Ha, 13-Hb), 0.68 (t, 3 H, 14-H);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz,  $J_{11,12} = 7.4$  Hz,  $J_{12,13} = 7.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 178.1 (C-10), 173.3 (C-1), 95.3 (C-2), 70.4 (C-6), 70.1 (C-8), 68.3 (C-7), 66.6 (C-4), 63.1 (C-9), 51.9 (C-5), 38.9 (C-3), 35.7 (C-11), 27.5 (C-12), 21.6 (C-13), 12.9 (C-14).

C<sub>14</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>9</sub> 351.35

***N*-Pent-4-enoyl-5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure  
(246)**

**Neu5Penten**



Enzymatische Umsetzung von ManNPenten **167** nach **AAV 9a**

Ansatz: 712 mg (3.3 mmol) ManNPenten **167**  
 3.681 mL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (3.3 mmol)  
 264 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
 1.75 mL (87 U, 24 U/mL) Enzymlösung  
 5.416 mL Puffer  
 16.4 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 4.5 h

Ausbeute: 494 mg (1.41 mmol, 84 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.56$  (NH<sub>3</sub>/EtOH 1:1)

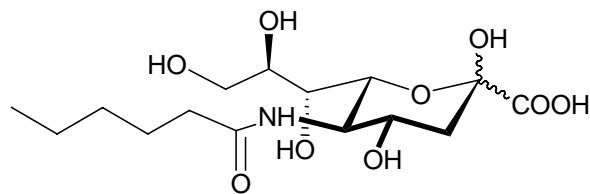
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.82 (m, 1 H, 13-H), 5.06 (dd, 1 H, 14-Ha), 4.99 (dd, 1 H, 14-Hb), 4.04-3.98 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.87 (dd, 1 H, 5-H), 3.78 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.69 (ddd, 1 H, 8-H), 3.54 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.50 (dd, 1 H, 7-H), 2.39-2.28 (m, 4 H, 11-Ha, 11-Hb, 12-Ha, 12-Hb), 2.26 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.82 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 177.4 (C-10), 173.8 (C-1), 137.5 (C-13), 116.2 (C-14), 95.7 (C-2), 70.8 (C-6), 70.6 (C-8), 68.8 (C-7), 67.0 (C-4), 63.7 (C-9), 52.4 (C-5), 39.3 (C-3), 35.6 (C-11), 29.7 (C-12).

C<sub>13</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>9</sub> 337.32

***N*-Hexanoyl-5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure  
(247)**

**Neu5Hex**



Enzymatische Umsetzung von ManNHex **168** nach **AAV 9a**

Ansatz: 442 mg (1.68 mmol) ManNHex **168**  
 1.874 mL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (1.68 mmol)  
 136 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
 1.642 mL (40 U, 24 U/mL) Enzymlösung  
 5.416 mL Puffer  
 8.4 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 4.5 h

Ausbeute: 494 mg (1.41 mmol, 84 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.67$  (NH<sub>3</sub>/EtOH 1:1)

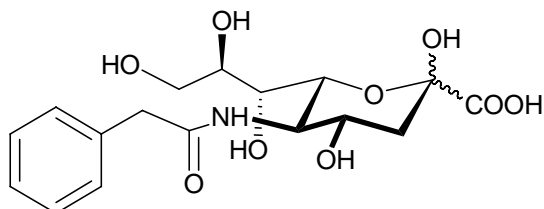
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 4.04-3.98 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.87 (dd, 1 H, 5-H), 3.78 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.69 (ddd, 1 H, 8-H), 3.55 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.49 (dd, 1 H, 7-H), 2.26 (dd, 1 H, 3-Ha), 2.24 (t, 2 H, 11-Ha, 11-Hb), 1.82 (dd, 1 H, 3-Hb), 1.55 (m, 2 H, 12-Ha, 12-Hb), 1.24 (m, 4 H, 13-Ha, 13-Hb, 14-Ha, 14-Hb), 0.81 (t, 3 H, 15-H);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz,  $J_{11,12} = 7.4$  Hz,  $J_{12,13} = 7.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 178.6 (C-10), 173.7 (C-1), 95.7 (C-2), 70.9 (C-6), 70.6 (C-8), 68.8 (C-7), 67.0 (C-4), 63.6 (C-9), 52.3 (C-5), 39.0 (C-3), 36.3 (C-11), 30.9 (C-12), 25.5 (C-13), 22.1 (C-14), 13.6 (C-15).

C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>9</sub> 365.38

***N*-Phenylacetyl-5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure  
(248)**

**Neu5AcPh**



**Enzymatische Umsetzung von ManNAcPh **169** nach AAV **9a****

**Ansatz:** 747 mg (2.5 mmol) ManNAcPh **169**  
 2.7 mL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (2.5 mmol)  
 300 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
 200 µL (100 U, 82 U/mL) Enzymlösung  
 9.06 mL Puffer  
 12.5 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 18 h

**Ausbeute:** 635 mg (1.65 mmol, 66 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.60$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 7.60-7.50 (m, 5 H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 4.24 (ddd, 1 H, 4-H), 4.22 (dd, 1 H, 6-H), 4.09 (dd, 1 H, 5-H), 3.92 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.85 (ddd, 1 H, 8-H), 3.82 (d, 2 H, 11-Ha, 11-Hb), 3.67 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.52 (dd, 1 H, 7-H), 2.48 (dd, 1 H, 3-Ha), 2.04 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz.

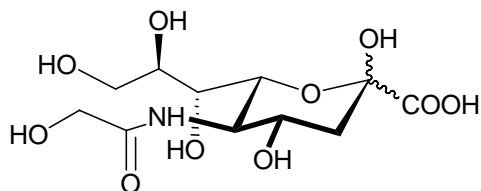
**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 175.8 (C-10), 173.8 (C-1), 95.8 (C-2), 70.8 (C-6), 70.6 (C-8), 68.7 (C-7), 66.9 (C-4), 63.6 (C-9), 52.3 (C-5), 43.0 (C-11), 39.3 (C-3).

C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>9</sub> 385.37



***N*-Glykoloyl-5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure  
(249)**

**Neu5AcOH**



Enzymatische Umsetzung von ManNAcOH **171** nach **AAV 9a**

Ansatz: 439 mg (1.85 mmol) ManNAcOH **171**  
2.127 mL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (2.035 mmol, 1.1 Äq.)  
74 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
3.854 mL (47 U, 82 U/mL) Enzymlösung  
3.205 mL Puffer  
9.26 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
4 h

Ausbeute: 612 g (1.61 mmol, 87 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.26$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

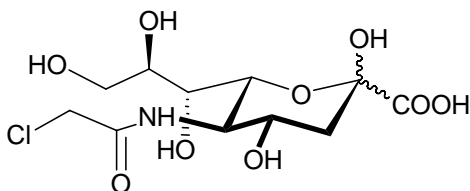
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 4.00$ - $3.91$  (m, 4 H, 4-H, 6-H, 11-Ha, 11-Hb),  $3.80$  (dd, 1 H, 5-H),  $3.62$  (dd, 1 H, 9-Ha),  $3.54$  (ddd, 1 H, 8-H),  $3.41$  (dd, 1 H, 9-Hb),  $3.34$  (dd, 1 H, 7-H),  $2.11$  (dd, 1 H, 3-Ha),  $1.69$  (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 176.0$  (C-10),  $173.8$  (C-1),  $95.8$  (C-2),  $70.6$  (C-6, C-8),  $68.6$  (C-7),  $66.9$  (C-4),  $63.5$  (C-9),  $61.4$  (C-11),  $52.2$  (C-5),  $39.3$  (C-3).

C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>9</sub> 385.37

***N*-Chloroacetyl-5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure  
(250)**

**Neu5AcCl**



Enzymatische Umsetzung von ManNAcCl **172** nach **AAV 9a**

Ansatz 1:                    578 mg (2.57 mmol) ManNAcCl **172**  
                                  2.832 mL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (2.57mmol)  
                                  103 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
                                  1.567 mL (129 U, 82 U/mL) Enzymlösung  
                                  8.348 mL Puffer  
                                  12.85 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
                                  4 h

Ausbeute:                    670 mg (1.95 mmol, 76 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.42$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

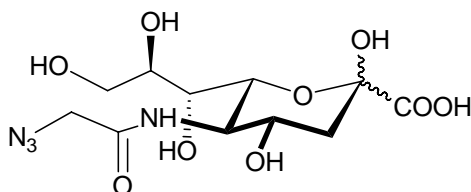
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 4.13$  (d, 2 H, 11-Ha, 11-Hb), 4.12-4.05 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.94 (dd, 1 H, 5-H), 3.78 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.69 (ddd, 1 H, 8-H), 3.56 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.50 (dd, 1 H, 7-H), 2.27 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.84 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 173.7$  (C-1), 170.8 (C-10), 95.7 (C-2), 70.6 (C-6, C-8), 68.6 (C-7), 66.9 (C-4), 63.6 (C-9), 52.2 (C-5), 42.7 (C-11), 39.3 (C-3).

C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>9</sub> 343.71

***N*-Azidoacetyl-5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure  
(252)**

**Neu5AcN<sub>3</sub>**



Enzymatische Umsetzung von ManNAcN<sub>3</sub> **175** nach **AAV 9a**

Ansatz 1:                    210 mg (0.8 mmol) ManNAcN<sub>3</sub> **175**  
                                  0.811 mL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (0.8 mmol)  
                                  64 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
                                  0.26 mL (40 U, 156 U/mL) Enzymlösung  
                                  3.065 mL Puffer  
                                  4.2 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
                                  8 h

Ausbeute:                    134 mg (0.38 mmol, 48 %) als farbloser Feststoff

Ansatz 1:                    34 mg (0.1 mmol) Neu5AcCl **246**  
                                  24 mg (0.5 mmol, 5 äq) NaN<sub>3</sub>  
                                  2.25 mL Aceton/Wasser (4:1) 3 h unter Rückfluß

Ausbeute:                    35 mg (0.1 mmol, 100 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.40$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

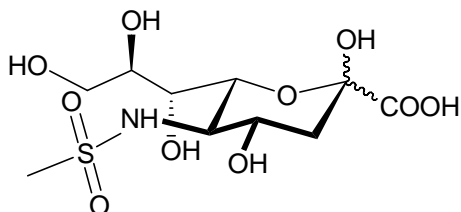
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 4.11-4.02 (m, 4 H, 4-H, 6-H, 11-Ha, 11-Hb), 3.96 (dd, 1 H, 5-H), 3.79 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.71 (ddd, 1 H, 8-H), 3.57 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.51 (dd, 1 H, 7-H), 2.27 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.84 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 174.0 (C-1), 171.5 (C-10), 95.8 (C-2), 70.6 (C-6, C-8), 68.6 (C-7), 66.9 (C-4), 63.5 (C-9), 52.2 (C-5), 52.3 (C-11), 39.3 (C-3).

C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>    350.28

***N*-Methansulfonyl-5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-  
ulopyranosonsäure (253)**

Neu5Ms



Enzymatische Umsetzung von ManNMs **176** nach **AAV 9a**

Ansatz: 205 mg (0.8 mmol) ManNMs **176**  
 0.859 mL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (0.8 mmol)  
 128 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
 0.512 mL (80 U, 156 U/mL) Enzymlösung  
 2.853 mL Puffer  
 4 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 2 d

Ausbeute: 204 mg (0.59 mmol, 74 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.61$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

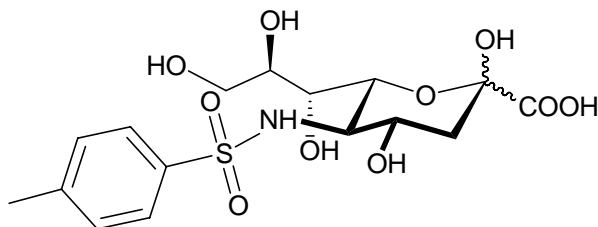
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 3.89\text{--}3.82$  (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.76 (d, 1 H, 7-H), 3.70 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.60 (ddd, 1 H, 8-H), 3.49 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.28 (dd, 1 H, 5-H), 3.03 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>), 2.14 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.72 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 13.1$  Hz,  $J_{3a,4} = 4.9$  Hz,  $J_{3b,4} = 12.0$  Hz,  $J_{4,5} = 10.1$  Hz,  $J_{5,6} = 10.5$  Hz,  $J_{7,8} = 9.3$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 174.5$  (C-1), 98.1 (C-2), 73.8 (C-6), 73.1 (C-8), 70.6 (C-7), 70.0 (C-4), 65.9 (C-9), 58.6 (C-5), 44.1 (CH<sub>3</sub>), 42.2 (C-3).

C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>10</sub>S 345.32

***N*-p-Methylphenylsulfonyl-5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-  
ulopyranosonsäure (254)**

**Neu5Tos**



Enzymatische Umsetzung von ManNTos **177** nach AAV **9a**

Ansatz: 216 mg (0.65 mmol) ManNTos **177**  
 0.715 mL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (0.65 mmol)  
 26 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
 0.397 mL (32.5 U, 82 U/mL) Enzymlösung  
 2.112 mL Puffer  
 3.25 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 1 d

Ausbeute: 213 g (0.48 mmol, 74 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.61$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

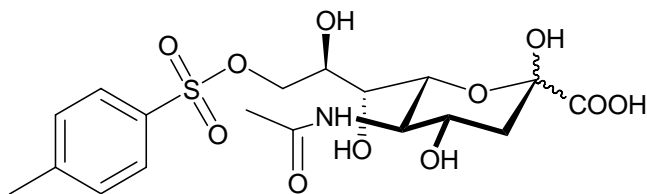
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 7.62$  (d, 2 H, H<sub>ar</sub>),  $7.26$  (d, 2 H, H<sub>ar</sub>),  $3.83$  (d, 1 H, 6-H),  $3.72$  (ddd, 1 H, 4-H),  $3.63$  (dd, 1 H, 9-Ha),  $3.54$  (ddd, 1 H, 8-H),  $3.47$  (d, 1 H, 7-H),  $3.34$  (dd, 1 H, 9-Hb),  $3.23$  (dd, 1 H, 5-H),  $2.27$  (s, 3 H, CH<sub>3</sub>),  $2.04$  (dd, 1 H, 3-Ha),  $1.60$  (dd, 1 H, 3-Hb),  $1.04$  (t, 3 H, 12-H);  $J_{3a,3b} = 13.1$  Hz,  $J_{3a,4} = 4.9$  Hz,  $J_{3b,4} = 12.0$  Hz,  $J_{4,5} = 10.1$  Hz,  $J_{5,6} = 10.5$  Hz,  $J_{7,8} = 9.3$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 175.2$  (C-1),  $146.5$  (C<sub>ar</sub>),  $139.2$  (C<sub>ar</sub>),  $131.5$  (C<sub>ar</sub>),  $128.6$  (C<sub>ar</sub>),  $97.1$  (C-2),  $73.0$  (C-6),  $72.4$  (C-8),  $70.2$  (C-7),  $68.9$  (C-4),  $65.4$  (C-9),  $57.8$  (C-5),  $41.1$  (C-3),  $22.0$  (CH<sub>3</sub>).

C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>10</sub>S 421.42

**5-Acetamido-3,5-dideoxy-9-*O*-*p*-methylphenylsulfonyl-D-glycero-D-galacto-non-2-  
ulopyranosonsäure (257)**

**9-Tos-Neu5Ac**



**Enzymatische Umsetzung von 9-Tos-ManNAc **187** nach AAV **9a****

Ansatz: 158 mg (0.42 mmol) 9-Tos-ManNAc **187**  
 0.454 mL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (0.42 mmol)  
 36 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
 0.146 mL (23 U, 156 U/mL) Enzymlösung  
 3.564 mL Puffer  
 4.2 mL Gesamtvolumen, 100 mM Substratkonzentration  
 18 h

Ausbeute: 44 mg (0.01 mmol, 23 %) als rötlicher Feststoff

$R_f = 0.32$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

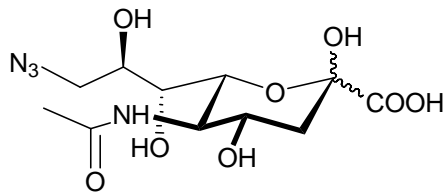
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 7.68$  (d, 2 H, H<sub>ar</sub>),  $7.35$  (d, 2 H, H<sub>ar</sub>),  $4.16$  (dd, 1 H, 9-Ha),  $4.06$  (dd, 1 H, 9-Hb),  $3.89$  (m, 1 H, 4-H),  $3.82$  (dd, 1 H, 6-H),  $3.71$  (dd, 1 H, 5-H),  $3.70$  (m, 1 H, 8-H),  $3.40$  (dd, 1 H, 7-H),  $2.30$  (s, 3 H, NHAc),  $2.14$  (dd, 1 H, 3-Ha),  $1.89$  (s, 3 H, CH<sub>3</sub>),  $1.70$  (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3a,4} = 4.9$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.4$  Hz,  $J_{8,9b} = 5.2$  Hz,  $J_{9a,9b} = 10.7$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 175.3$  (C-10),  $173.8$  (C-1),  $95.6$  (C-2),  $73.0$  (C-9),  $70.6$  (C-6),  $68.1$  (C-7),  $67.9$  (C-8),  $66.9$  (C-4),  $52.4$  (C-5),  $39.2$  (C-3),  $22.4$  (C-11),  $21.1$  (CH<sub>3</sub>).

C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>11</sub> 463.46

**5-Acetamido-9-azido-3,5,9-tridesoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure  
(258)**

**9-Azido-Neu5NAc**



Enzymatische Umsetzung von 9-Azido-ManNAc **193** nach **AAV 9a**

Ansatz: 192 mg (0.78 mmol) 9-Azido-ManNAc **193**  
 0.791 mL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (0.78 mmol)  
 31 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
 0.500 mL (78 U, 156 U/mL) Enzymlösung  
 2.578 mL Puffer  
 3.9 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 3.5 h

Ausbeute: 146 mg (0.45 mmol, 58 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.49$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

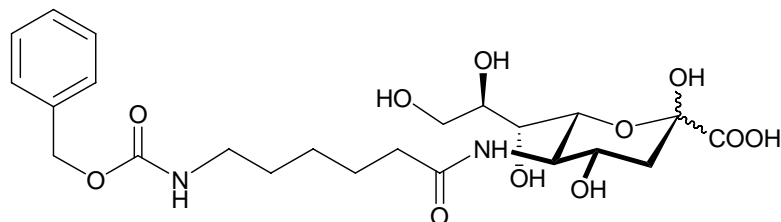
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 4.26\text{--}4.21$  (m, 2 H, 4-H, 6-H), 4.10 (dd, 1 H, 5-H), 4.07 (ddd, 1 H, 8-H), 3.79 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.74 (dd, 1 H, 7-H), 3.65 (dd, 1 H, 9-Hb), 2.48 (dd, 1 H, 3-Ha), 2.05 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.8$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.0$  Hz,  $J_{9a,9b} = 13.2$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = C$  95.7 (C-2), 70.6 (C-6), 69.9 (C-8), 69.1 (C-7), 67.1 (C-4), 54.2 (C-9), 52.5 (C-5), 39.3 (C-3), 22.5 (C-11).

C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub> 334.28

***N*-(*N*-Benzyloxycarbonyl-6-aminohexanoyl)-5-amino-3,5-dideoxy-*D*-glycero-*D*-galacto- non-2-ulopyranosonsäure (259)**

Neu5NAhx



**Enzymatische Umsetzung von ManNAhx nach AAV 9b**

Ansatz: 450 mg (1.06 mmol) ManNAhx  
 1.78 mL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (1.6 mmol)  
 84 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
 4.68 mL (75 U, 16 U/mL) Enzymlösung  
 6.04 mL Puffer  
 12.5 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 2 d

Ausbeute: 360 mg (0.7 mmol, 66 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.67$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 7.30-7.20 (m, 5 H, H<sub>ar</sub> Cbz), 4.95 (s, 2 H, 17-Ha, 17-Hb), 3.90 (m, 1 H, 4-H), 3.78 (m, 1 H, 6-H), 3.67 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.59 (dd, 1 H, 8-H), 3.50-3.43 (m, 2 H, 5-H, 9-Hb), 3.38 (dd, 1 H, 7-H), 2.96 (m, 2 H, 15-Ha, 15-Hb), 2.28-2.05 (m, 3 H, 3-Ha, 11-Ha, 11-Hb), 1.72 (ddd, 1 H, 3-Hb), 1.45 (m, 2 H, 12-Ha, 12-Hb), 1.32 (m, 2 H, 14-Ha, 14-Hb), 1.16 (m, 2 H, 13-Ha, 13-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 178.2 (C-10), 173.6 (C-1), 158.9 (C-16), 95.7 (C-2), 70.7 (C-6, C-8), 68.8 (C-7), 67.2 (C-4), 67.0 (C-17), 63.6 (C-9), 52.4 (C-5), 40.6 (C-15), 39.4 (C-3), 36.2 (C-11), 28.9 (C-14), 25.8 (C-13), 25.4 (C-12).

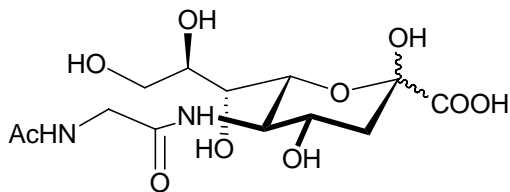
C<sub>23</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>

514.52



***N*-(*N*-Acetylglycyl)-5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure (260)**

Neu5NGly



Enzymatische Umsetzung von ManNGly nach **AAV 9b**

Ansatz: 361 mg (1.3 mmol) ManNGly  
 1.313 g Na-Pyruvat (13 mmol)  
 65  $\mu$ L 1 M NaN<sub>3</sub>  
 13 mg Aldolase  
 455  $\mu$ L Puffer  
 6.5 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 4 d

Ausbeute: 336 mg (1.0 mmol, 77 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.27$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

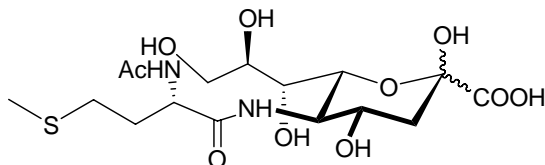
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 3.92-3.86 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.74 (dd, 1 H, 5-H), 2.72 (s, 2 H, 11-Ha, 11-Hb), 3.62 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.52 (ddd, 1 H, 8-H), 3.40 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.32 (dd, 1 H, 7-H), 2.09 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.84 (s, 3 H, NHAc), 1.66 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3a,4} = 4.9$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz,  $J_{11,12} = 7.7$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 175.3 (NHAc), 173.7 (C-1), 172.6 (C-10), 95.7 (C-2), 70.6 (C-6, C-8), 68.6 (C-7), 66.9 (C-4), 63.6 (C-9), 52.6 (C-5), 43.1 (C-11), 39.2 (C-3), 30.6 (C-11).

C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub> 336.32

***N*-Methionyl-5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure  
(261)**

**Neu5NMet**



**Enzymatische Umsetzung von ManNMet nach AAV 9b**

**Ansatz:** 986 mg (2.8 mmol) ManNMet  
 2.828 g Na-Pyruvat (28 mmol)  
 140 µL 1 M NaN<sub>3</sub>  
 28 mg Aldolase  
 980 µL Puffer  
 14 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 4 d

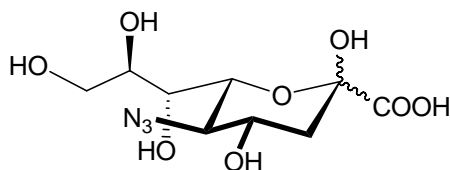
**Ausbeute:** 800 mg (1.82 mmol, 65 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.42$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 4.20 (dd, 2 H, 11-H), 3.95-3.86 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.75 (dd, 1 H, 5-H), 3.63 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.52 (ddd, 1 H, 8-H), 3.42 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.34 (dd, 1 H, 7-H), 2.41 (m, 2 H, 13-Ha, 13-Hb), 2.11 (dd, 3 H, 3-Ha), 1.90 (m, 4 H, 12-Ha, 14-H), 1.83 (m, 4 H, 12-Hb, NHAc), 1.67 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz,  $J_{11,12a} = 5.8$  Hz,  $J_{11,12b} = 8.7$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 174.9, 174.8 173.7(C-1, C-10, NHAc), 95.7 (C-2), 70.8 (C-6, C-8), 68.8 (C-7), 66.7 (C-4), 63.6 (C-9), 53.7 (C-11), 52.5 (C-5), 39.6 (C-3), 30.9 (C-12), 29.6 (C-11), 22.1 (NHAc), 14.6 (C-14).

C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>S 440.47

**5-Azido-3,5-didesoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure (262)****Neu5Azid****Enzymatische Umsetzung von ManAzid 203 nach AAV 9b**

Ansatz: 730 mg (3.56 mmol) ManAzid **203**  
 3.6 g Na-Pyruvat (35.6 mmol)  
 178  $\mu$ L 1 M NaN<sub>3</sub>  
 36 mg Aldolase  
 1.246 mL Puffer  
 17.8 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 4 d

Ausbeute: 657 mg (2.24 mmol, 63 %) als farbloser Feststoff

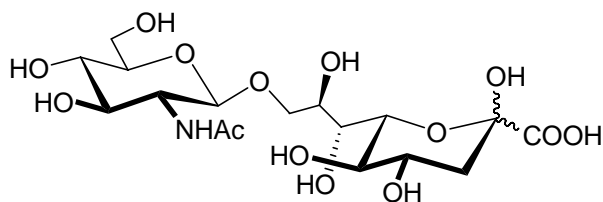
$R_f = 0.55$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 4.28$  (ddd, 1 H, 4-H), 4.12 (dd, 1 H, 6-H), 4.03 (dd, 1 H, 9-Ha), 4.00 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.92 (ddd, 1 H, 8-H), 3.83 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.70 (dd, 1 H, 5-H), 2.46 (dd, 1 H, 3-Ha), 2.06 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.8$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.6$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{6,7} = 1.0$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 173.4$  (C-1), 95.8 (C-2), 70.8 (C-6), 70.6 (C-8), 68.6 (C-7), 68.1 (C-4), 63.5 (C-5), 63.5 (C-5), 39.1 (C-3).

C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub> 293.23

**9-O- $\alpha$ -(2-Acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-3-desoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure (267)**



Enzymatische Umsetzung von 6-O-(2-Acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-D-mannose **214** nach **AAV 9b**

Ansatz: 90 mg (0.24 mmol) 6-O- $\alpha$ -(2-Acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-D-mannose **214**  
 259 mg (2.4 mmol, 10 Äq.) Na-Pyruvat  
 6  $\mu$ L 1 M NaN<sub>3</sub>  
 118  $\mu$ L 0.1 M Puffer  
 5 mg Aldolase  
 1.18 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 5 d, Raumtemperatur, 3 d 35°C

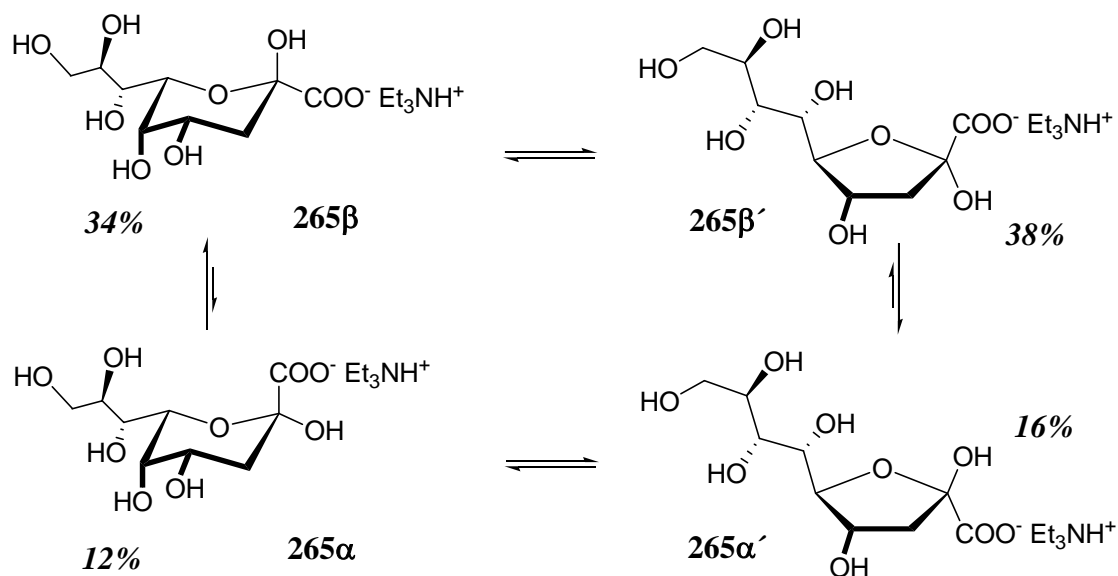
Ausbeute: 20 mg (0.042 mmol, 18 %) **263** als farbloser Feststoff, 50 mg Edukt (56%) an **214** regeneriert

$R_f = 0.27$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 4.61 (d, 1 H, 1'-H), 4.19 (dd, 1 H, 9-Ha), 4.10-4.03 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 4.02-3.95 (m, 2 H, 6'-Ha, 7-H), 3.88 (m, 1 H, 8-H), 3.86-3.79 (m, 3 H, 9-Hb, 2'-H, 6'-Hb), 3.67-3.60 (m, 2 H, 3'-H, 5-H), 3.52 (m, 2 H, 4'-H, 5'-H), 3.32 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.89 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3\text{äq},4} = 5.1$  Hz  $J_{3\text{ax},4} = 11.2$  Hz,  $J_{3\text{äq},3\text{ax}} = 13.0$  Hz,  $J_{4,5} = 9.5$  Hz,  $J_{5,6} = 9.5$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.1$  Hz,  $J_{9a,9b} = 10.8$  Hz,  $J_{1',2'} = 8.5$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 177.2 (C-1), 98.8 (C-1'), 96.9 (C-2), 71.8 (C-6), 70.9 (C-5), 71.3, 69.7, 69.6, 69.4, 69.3, 68.8, 68.2 (C-4, C-7, C-8, C-4', C-2', C-3', C-5'), 69.0 (C-9), 61.5 (C-6'), 39.5 (C-3).

C<sub>17</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>14</sub> 471.41

**Triethylammoniumhydrogen-3-desoxy-D-glycero-D-gulo-non-2-ulopyranosonat (269)****5-*epi*-KDN****Enzymatische Umsetzung von D-Glucose nach AAV 9a**

Ansatz: 78 mg (0.43 0.065 mmol) D-Glucose  
 463 µL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (0.43 mmol)  
 13 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
 145 µL (12 U, 82 U/mL) Enzymlösung  
 0.813 mL Puffer  
 2.2 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 3 d

Ausbeute: 20 mg (0.065 mmol, 15 %) als farbloser Feststoff. Pyranoide/furanoide Form  
 (265/265') **46:54**

**Enzymatische Umsetzung von D-Glucose nach AAV 9b**

Ansatz: 108 mg (0.6 mmol) D-Glucose  
 594 mg (5.4 mmol, 9 Äq.) Na-Pyruvat  
 4 µL 1 M NaN<sub>3</sub>  
 43 µL 0.1 M Puffer

2 mg Aldolase

0.3 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration

8 h, Raumtemperatur

Ausbeute: 17 mg (0.05 mmol, 8%) als farbloser Feststoff. Pyranoide/furanoide Form  
(263/263') 42:58

$R_f = 0.26$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/H<sub>2</sub>O 35:35:7:23)

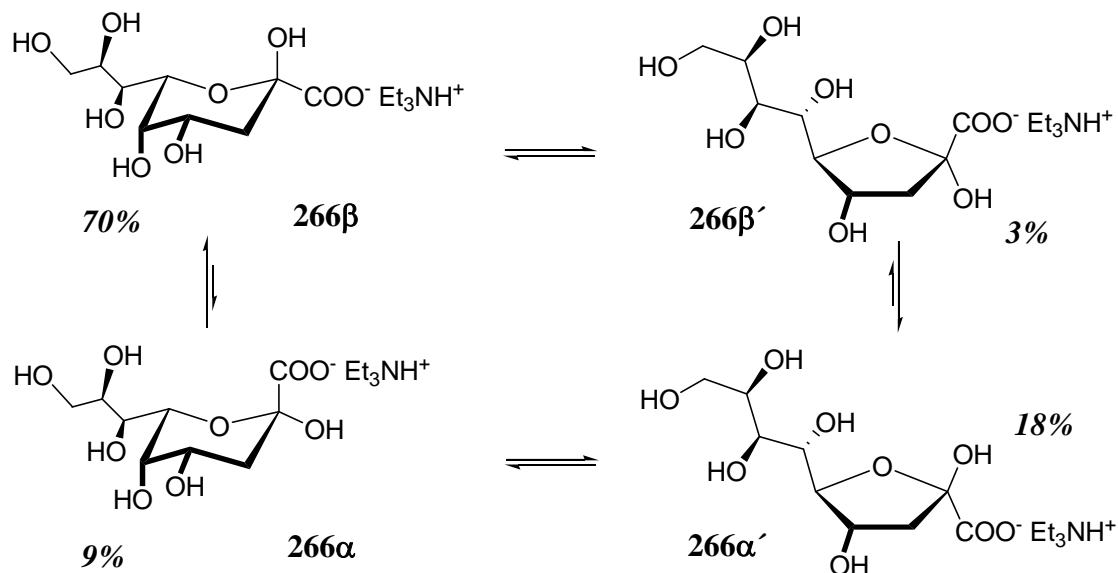
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 4.13$  (m, 2 H, 4'-H $\alpha$ , 4'-H $\beta$ ), 4.03 (m, 1 H, 5'-H $\beta$ ), 4.00 (dd, 1 H, 5'-H $\alpha$ ), 3.85-3.35 (m, 10 H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H, 9-H $\alpha$ , 9-H $\beta$ , 6'-H, 7'-H, 8'-H, 9'-H $\alpha$ , 9'-H $\beta$ ), 2.91 (q, 2 H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>), 2.28 (dd, 1 H, 3'-H $\alpha\beta$ ), 2.11-1.98 (m, 2 H, 3'-H $\alpha\alpha$ , 3'-H $\beta\alpha$ ), 1.90 (dd, 1 H, 3-H $\alpha\alpha$ ), 1.67 (dd, 1 H, 3'-H $\beta\beta$ ), 1.70 (dd, 1 H, 3-H $\alpha\beta$ ), 1.63 (dd, 1 H, 3-H $\beta\beta$ ), 1.48 (dd, 1 H, 3-H $\beta\alpha$ ), 0.98 (q, 2 H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>);  $J_{3\alpha\alpha,3\beta\alpha} = 13.0$  Hz,  $J_{3\alpha\alpha,4\alpha} = 5.2$  Hz,  $J_{3\alpha\alpha,4\alpha} = 11.8$  Hz,  $J_{3\alpha\beta,3\beta\beta} = 13.2$  Hz,  $J_{3\beta\beta,4\beta} = 12.9$  Hz,  $J_{3\alpha\beta,4\beta} = 4.9$  Hz,  $J_{3\alpha'\beta,3'\beta\beta} = 14.2$  Hz,  $J_{3\alpha'\beta,4\beta} = 7.4$  Hz,  $J_{3\beta'\beta,4'\beta} = 3.5$  Hz,  $J_{3\beta'\alpha,3'\beta\alpha} = 13.5$  Hz,  $J_{3\beta'\alpha,4'\alpha} = 7.0$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 177.2$  (C-1, C-1'), 104.5 (C-2'), 96.7 (C-2), 87.9 (C-5'β), 85.0 (C-5'α), 73.3-68.6 (C-5, C-6, C-7, C-8, C-4', C-6', C-7', C-8'), 66.5 (C-4), 63.3, 63.1 (C-9'α, C-9'β), 62.5 (C-9), 47.1 ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>), 44.5, 43.9 (C-3'α, C-3'β), 34.0 (C-3), 8.6 ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>).

C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>9</sub> 369.41

**Triethylammoniumhydrogen-3-desoxy-D-glycero-L-mannoso-non-2-ulopyranosonat**  
(270)

**5,7-bisepi-KDN**



Enzymatische Umsetzung von D-Galactose nach **AAV 9a**

Ansatz: 78 mg (0.43 0.065 mmol) D-Galactose  
 463 µL PEP-K<sub>1</sub>-Lösung (0.43 mmol)  
 13 µL 1 M MnCl<sub>2</sub>  
 145 µL (12 U, 82 U/mL) Enzymlösung  
 0.813 mL Puffer  
 2.2 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 3 d

Ausbeute: 25 mg (0.09 mmol, 22 %) als farbloser Feststoff. Pyranoide/furanoide Form  
 (266/266') **79:21**

$R_f = 0.25$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/H<sub>2</sub>O 35:35:7:23)

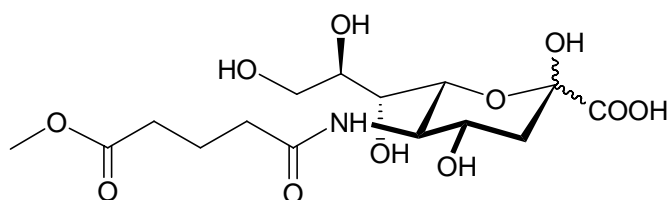
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 4.52 (m, 2 H, 4'-H), 4.08 (m, 1 H, 4-H), 4.05-3.60 (m, 11 H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H, 9-Ha, 9-Hb, 5'-H, 6'-H, 7'-H, 8'-H, 9'-Ha, 9'-Hb), 2.60 (dd, 1 H, 3'-Ha), 2.43 (m, 1 H, 3-Ha $\alpha$ ), 2.09 (dm, 1 H, 3'-Hb), 2.00 (dd, 1 H, 3-Ha $\beta$ ), 1.90 (dd, 1 H, 3-Hb $\beta$ ), 1.77 (dd, 1 H, 3-Hb $\alpha$ );  $J_{3a,3b} = 12.7$  Hz,  $J_{3b,4} = 12.7$  Hz,  $J_{3b,4} = 5.9$ .

**$^{13}\text{C}$ -NMR (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 177.2 (C-1, C-1'), 96.8 (C-2), 70.9, 70.5 (C-6, C-8), 68.4 (C-7), 67.1 (C-4), 66.7 (C-5), 63.5 (C-9), 42.9 (C-3'), 34.1 (C-3).

$\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{NO}_9$  369.41

***N*-glutaryl-methylester-5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure (271)**

**Neu5GluMe**



Enzymatische Umsetzung von *N*-Glutaryl-methylester-2-amino-2-desoxy-mannose **182** nach **AAV 9b**

Ansatz: 13 mg (0.043 mmol) *N*-Glutaryl-methylester-2-amino-2-desoxy-mannose **182**  
 48 mg Na-Pyruvat (0.43 mmol, 10 Äq.)  
 2  $\mu\text{L}$  1 M  $\text{NaN}_3$   
 5 mg Aldolase  
 30  $\mu\text{L}$  Puffer  
 0.215 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 4 d

Ausbeute: 10 mg (0.025 mmol, 58 %) als farbloser Feststoff

$R_f$  = 0.47 (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**$^1\text{H}$ -NMR (500MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 4.27-4.20 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 4.12 (dd, 1 H, 5-H), 4.01 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.93 (ddd, 1 H, 8-H), 3.87 (s, 3 H, 15-H), 3.80 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.72 (dd, 1 H, 7-H), 2.62 (dd, 2 H, 11-Ha, 11-Hb), 2.54 (dd, 2 H, 13-Ha, 13-Hb), 2.48 (dd, 1 H, 3-Ha), 2.09 (p,



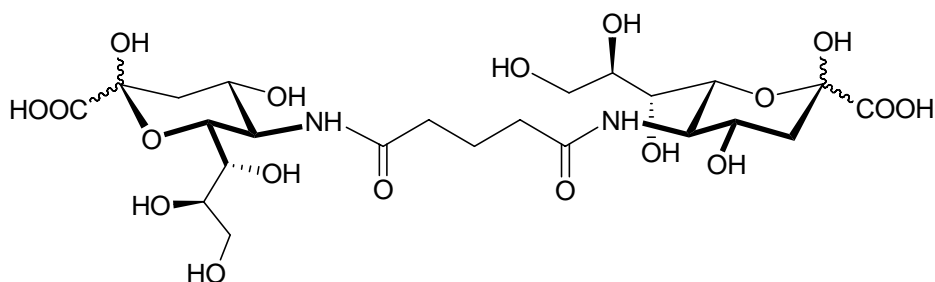
2 H, 12-Ha, 12-Hb), 2.06 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.9$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.8$  Hz,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $J_{5,6} = 9.6$  Hz,  $J_{6,7} = 1.2$  Hz,  $J_{7,8} = 7.8$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.8$  Hz,  $J_{8,9b} = 8.0$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 177.9, 177.7$  (C-10, C-14), 174.9 (C-1), 96.7 (C-2), 71.6 (C-6), 71.4 (C-8), 69.6 (C-7), 67.9 (C-4), 64.4 (C-9), 53.4 (C-5), 53.2 (C-16), 40.2 (C-3), 36.1 (C-11), 34.0 (C-13).

$\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{NO}_{11}$  395.36

**$N^1, N^5$ -Bis-(5-desoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranos-5-ylonsäure)-glutaramid (272)**

**BisNeu5Glu**



Enzymatische Umsetzung von DiManNGlu **184** nach AAV **9b**

Ansatz: 123 mg (0.27 mmol) DiManNGlu **184**  
 594 mg Na-Pyruvat (5.4 mmol, 20 Äq.)  
 5  $\mu\text{L}$  1 M  $\text{NaN}_3$   
 20 mg Aldolase  
 190  $\mu\text{L}$  Puffer  
 2.7 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 4 d

Ausbeute: 116 mg (0.18 mmol, 68 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.20$  (EtOH/ $\text{NH}_3$  2 :1)

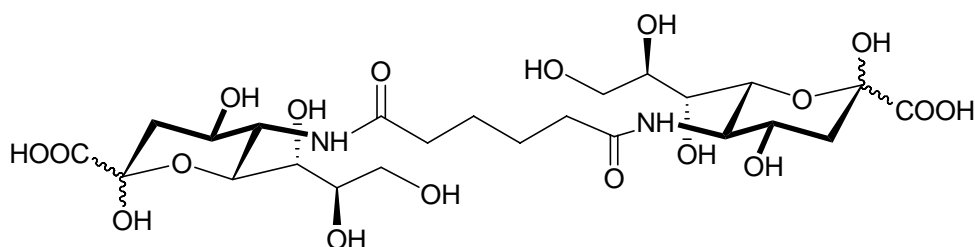
**<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 3.90 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.77 (dd, 1 H, 5-H), 3.65 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.57 (ddd, 1 H, 8-H), 3.46 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.38 (dd, 1 H, 7-H), 2.17 (m, 4 H, 2'-Ha, 2'-Hb, 4'-Ha, 4'-Hb), 2.15 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.75 (tt, 2 H, 3'-Ha, 3'-Hb), 1.71 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b}$  = 12.9 Hz,  $J_{3b,4}$  = 11.8 Hz,  $J_{4,5}$  = 9.6 Hz,  $J_{5,6}$  = 9.6 Hz,  $J_{6,7}$  = 1.2 Hz,  $J_{7,8}$  = 7.8 Hz,  $J_{8,9a}$  = 2.8 Hz,  $J_{8,9b}$  = 8.0 Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 177.0 (C-1', C-5'), 173.6 (C-1), 95.7 (C-2), 70.8 (C-6), 70.5 (C-8), 68.6 (C-7), 66.9 (C-4), 63.5 (C-9), 52.4 (C-5), 39.3 (C-3), 35.4 (C-2', C-5'), 22.1 (C-3').

C<sub>23</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>O<sub>18</sub> 630.55

***N*<sup>1</sup>,*N*<sup>5</sup>-Bis-(5-desoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranos-5-ylonsäure)-adipinamid (273)**

**BisNeu5Adip**



Enzymatische Umsetzung von BisManNAdip **185** nach **AAV 9b**

Ansatz: 100 mg (0.214 mmol) BisManNAdip **185**  
 470 mg Na-Pyruvat (4.3 mmol, 20 Äq.)  
 10  $\mu$ L 1 M NaN<sub>3</sub>  
 20 mg Aldolase  
 100  $\mu$ L Puffer  
 2.2 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 6 d

Ausbeute: 72 mg (0.11 mmol, 53 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.18$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

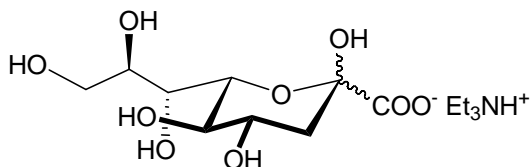
**$^1\text{H-NMR}$  (500MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 4.00$  (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.89 (dd, 1 H, 5-H), 3.77 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.70 (ddd, 1 H, 8-H), 3.58 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.50 (dd, 1 H, 7-H), 2.26 (m, 5 H, 3-Ha, 2'-Ha, 2'-Hb, 5'-Ha, 5'-Hb), 1.83 (dd, 1 H, 3-Hb), 1.59 (m, 4 H, 3'-Ha, 3'-Hb, 4'-Ha, 4'-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.9$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.8$  Hz,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $J_{5,6} = 9.6$  Hz,  $J_{6,7} = 1.2$  Hz,  $J_{7,8} = 7.8$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.8$  Hz,  $J_{8,9b} = 8.0$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 181.5$  (C-1', C-6'), 177.7 (C-1), 95.7 (C-2), 70.9 (C-6), 70.5 (C-8), 68.7 (C-7), 67.0 (C-4), 63.5 (C-9), 52.4 (C-5), 39.5 (C-3), 36.0 (C-2', C-5'), 25.2 (C-3', C-4').

$\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_{18}$  644.58

**Triethylammoniumhydrogen-3-desoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonat**  
(274)

**KDN**



**Enzymatische Umsetzung von D-Mannose nach AAV 9b**

Ansatz: 108 mg (0.6 mmol) D-Mannose  
594 mg (5.4 mmol, 9 Äq.) Na-Pyruvat  
4  $\mu\text{L}$  1 M  $\text{NaN}_3$   
43  $\mu\text{L}$  0.1 M Puffer  
1 mg Aldolase  
0.3 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
8 h, Raumtemperatur

Ausbeute: 112 mg (0.31 mmol, 51%) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.28$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

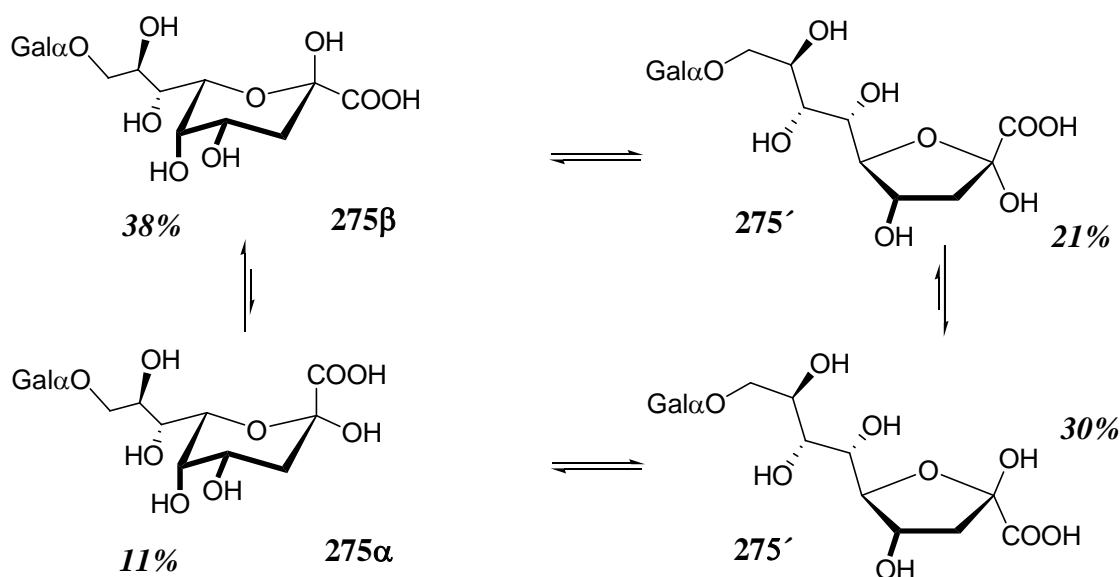
**$^1\text{H-NMR}$  (500MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 3.91$  (ddd, 1 H, 4-H), 3.86 (d, 1 H, 6-H), 3.81 (dd, 1 H, 9-Ha), 3.77 (dd, 1 H, 7-H), 3.71 (ddd, 1 H, 8-H), 3.59 (dd, 1 H, 9-Hb), 3.52 (dd, 1 H, 5-H), 3.14 (q, 2 H,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH}^+$ ), 2.15 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.72 (dd, 1 H, 3-Hb), 1.21 (t, 3 H,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH}^+$ );  $J_{3a,3b} = 12.7$  Hz,  $J_{3a,4} = 4.3$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.7$  Hz,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.7$  Hz,  $J_{8,9b} = 6.3$  Hz,  $J_{9a,9b} = 11.9$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 176.2$  (C-1), 95.9 (C-2), 71.0 (C-6), 70.1 (C-8), 69.8 (C-5), 68.6 (C-4), 67.7 (C-7), 62.8 (C-9), 46.1 ( $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH}^+$ ), 38.6 (C-3), 7.7 ( $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH}^+$ ).

$\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{NO}_9$  369.41

### 9-O- $\alpha$ -D-Galactopyranosyl-3-desoxy-D-glycero-D-gulo-non-2-ulosonsäure (275)

#### $\alpha\text{Gal}(1\rightarrow9)\text{-5-epi-KDN}$



#### Enzymatische Umsetzung von D-Melibiose nach AAV 9b

Ansatz: 204 mg (0.6 mmol) D-Melibiose  
 660 mg (6 mmol) Na-Pyruvat  
 7  $\mu\text{L}$  1 M  $\text{NaN}_3$

86  $\mu\text{L}$  0.1 M Puffer

5 mg Aldolase

0.6 mL Gesamtvolumen, 100 mM Substratkonzentration

2 Wochen, Raumtemperatur

Ausbeute: 21 mg (0.05 mmol, 8%) als farbloser Feststoff. Pyranoide/furanoide Form  
(275/275') **49:51**

$R_f = 0.24$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 4.82$  (m, 1 H, 1'-H), 4.34 (ddd, 1 H, 4-H' $\alpha$ ), 4.29 (ddd, 1 H, 4-H' $\beta$ ), 4.20-3.60 (m, 9 H, 4-H, 6-H, 7-H, 8-H, 9-Ha, 9-Hb, 2'-H, 4'-H, 5'-H), 3.58 (d, 2 H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.55-3.47 (m, 2 H, 3'-H, 5-H), 3.04 (q, 2 H,  $\text{Et}_3\text{NH}^+$ ), 2.52 (dd, 1 H, 3-Ha' $\beta$ ), 2.30 (dd, 1 H, 3-Ha' $\alpha$ ), 2.23 (m, 1 H, 3-Hb' $\alpha$ ), 2.12 (m, 1 H, 3-Ha $\alpha$ ), 1.99 (dd, 1 H, 3-Hb' $\beta$ ), 1.90 (dd, 1 H, 3-Ha $\beta$ ), 1.82 (m, 1 H, 3-Hb $\beta$ ), 1.71 (m, 1 H, 3-Hb $\alpha$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 175.4$  (C-1), 103.0 (C-2' $\alpha$ ), 102.3 (C-2' $\beta$ ), 98.1 (C-1'), 95.7 (C-2), 88.3 (C-5' $\alpha$ ), 87.9 (C-5' $\beta$ ), 72.9 (C-5), 72.3 (C-5'), 71.4-69.1 (C-6, C-7, C-8, C-4', C-2', C-3'), 68.9 (C-9), 68.4, 68.3 (C-4, C-3'), 65.9 (C-4), 61.5 (C-6'), 44.4, 44.2 (C-3' $\alpha$ , C-3' $\beta$ ), 33.4 (C-3).

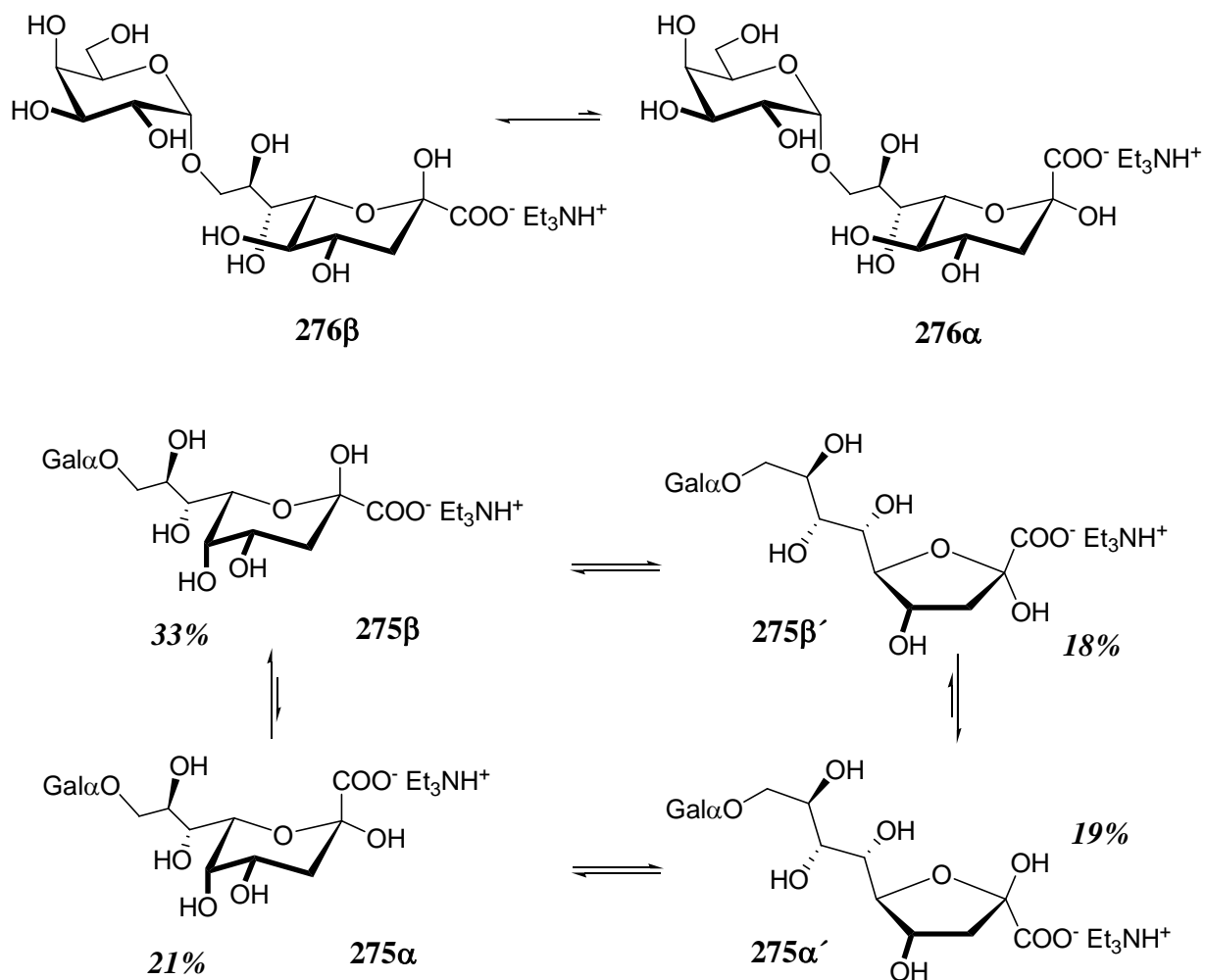
$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_{14}$  430.36

**Triethylammoniumhydrogen-9-*O*- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-3-desoxy-D-*glycero*-D-*galacto*-non-2-ulonat (276)**

$\alpha$ Gal(1 $\rightarrow$ 9)-KDN

**Triethylammoniumhydrogen-9-*O*- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-3-desoxy-D-*glycero*-D-*gulo*-non-2-ulonat (275)**

$\alpha$ Gal(1 $\rightarrow$ 9)-5-*epi*-KDN



**Enzymatische Umsetzung von Melibiose/Epimelibiose **220** 60:40 nach AAV **9b****

Ansatz 1: 136 mg (0.4 mmol) Melibiose/Epimelibiose **220** 60:40  
 374 mg (3.4 mmol, 8.5 Äq.) Na-Pyruvat  
 5  $\mu$ L 1 M NaN<sub>3</sub>  
 57  $\mu$ L 0.1 M Puffer  
 5 mg Aldolase  
 0.4 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration

5 d, 35°C

Ausbeute: 45 mg (0.085 mmol, 21%) farbloser Feststoff als  
Triethylammoniumhydrogensalz mit einem Verhältnis von **276 $\beta$ /276 $\alpha$**  93:7.

Ansatz 2: 389 mg (1.14 mmol) Melibiose/Epimelibiose **220** 60:40

1.254 g (11.4 mmol, 10 Äq.) Na-Pyruvat

29  $\mu$ L 1 M NaN<sub>3</sub>

570  $\mu$ L 0.1 M Puffer

5.7 mg Aldolase + 6.2 mg (14 d)

1.2 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration

14 d Raumtemperatur + 5 d, 35°C

Ausbeute: 34 mg (0.078 mmol, 7%) des Produktgemischs aus **276/275** 62:38 als farbloses  
Lithiumsalz. Pyranoide/furanoide Form (**275/275'**) **54:46**

$R_f = 0.27$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

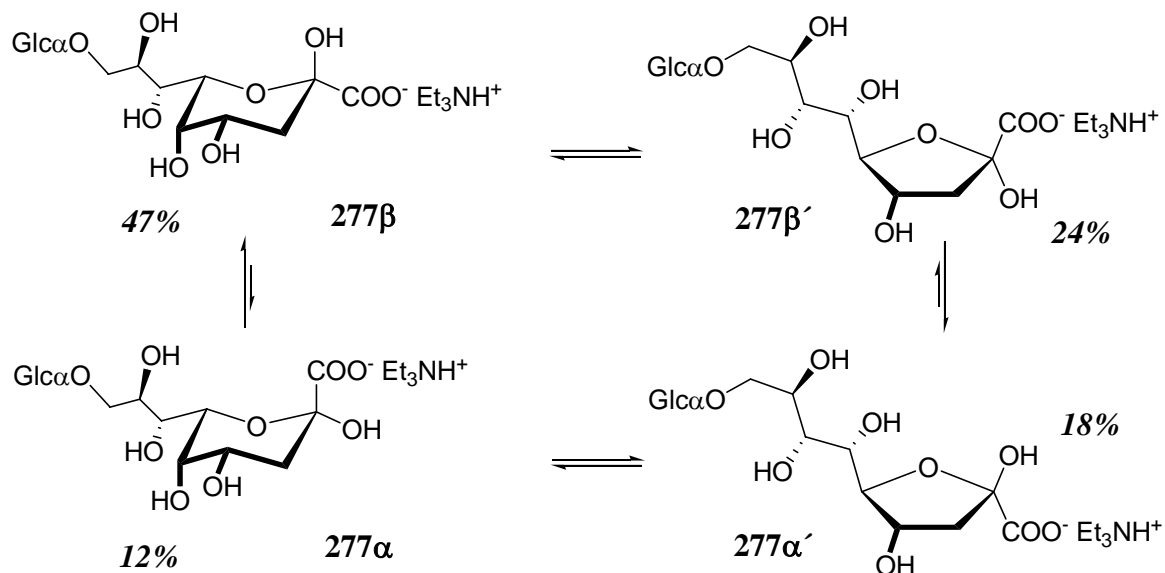
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 4.72$  (d, 1 H, 1'-H), 3.75-3.62 (m, 7 H, 4-H, 6-H, 7-H, 9-Ha, 3'-H, 4'-H, 5'-H), 3.60-3.55 (m, 2 H, 2'-H, 8-H), 3.48 (d, 2 H, 6-Ha, 6-Hb), 3.44 (m, 1 H, 9-Hb), 3.32 (d, 1 H, 5-H), 2.95 (q, 2 H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>), 1.91 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.52 (dd, 1 H, 3-Hb), 1.12 (t, 2 H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>);  $J_{3\ddot{a}q,4} = 5.1$  Hz  $J_{3ax,4} = 11.2$  Hz,  $J_{3\ddot{a}q,3ax} = 13.0$  Hz,  $J_{4,5} = 9.5$  Hz,  $J_{5,6} = 9.5$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.7$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta = 177.2$  (C-1), 98.8 (C-1'), 96.9 (C-2), 71.8 (C-6), 70.9 (C-5), 71.3, 69.7, 69.6, 69.4, 69.3, 68.8, 68.2 (C-4, C-7, C-8, C-4', C-2', C-3', C-5'), 69.0 (C-9), 61.5 (C-6'), 47.1 ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>), 39.5 (C-3), 8.6 ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>).

C<sub>21</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>14</sub> 531.25

**Triethylammoniumhydrogen-9-*O*- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-3-desoxy-D-glycero-D-gulo-non-2-ulosonat (277)**

$\alpha$ Glc(1 $\rightarrow$ 9)-5-*epi*-KDN



**Enzymatische Umsetzung von D-Isomaltose nach AAV 9b**

Ansatz: 204 mg (0.6 mmol) D-Isomaltose  
 660 mg (6 mmol) Na-Pyruvat  
 7  $\mu$ L 1 M NaN<sub>3</sub>  
 86  $\mu$ L 0.1 M Puffer  
 5 mg Aldolase  
 0.6 mL Gesamtvolumen, 100 mM Substratkonzentration  
 2 Wochen, Raumtemperatur

Ausbeute: 17 mg (0.04 mmol, 5.3%) des Triethylammoniumhydrogensalzes **277** als farbloser Feststoff. Pyranoide/furanoide Form (**277/277'**) **59:41**

$R_f = 0.21$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 5.12 (m, 1 H, 1'-H), 4.62 (m, 2 H, 4-H' $\alpha$ , 4-H' $\beta$ ), 4.48 (dd, 1 H, 5-H' $\beta$ ), 4.26 (m, 2 H, 4-H, 5-H' $\alpha$ ), 4.20-3.80 (m, 9 H, 6-H, 7-H, 8-H, 9-Ha, 9-Hb, 3'-H, 4'-H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.74 (dd, 1 H, 2'-H), 3.59 (dd, 1 H, 5'-H), 3.24 (q, 2 H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>),



2.75 (dd, 1 H, 3-Ha'β), 2.55 (dd, 1 H, 3-Ha'α), 2.48 (dd, 1 H, 3-Hb'α), 2.34 (m, 1 H, 3-Haα), 2.22 (dd, 1 H, 3-Hb'β), 2.18 (dd, 1 H, 3-Haβ), 2.11 (m, 1 H, 3-Hbβ), 1.99 (m, 1 H, 3-Hbα), 1.45 (t, 3 H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>);  $J_{3a\beta,3b\beta} = 12.3$  Hz,  $J_{3a\beta,4\beta} = 12.3$  Hz,  $J_{3b\beta,4\beta} = 5.2$  Hz,  $J_{3a'\alpha,3b'\alpha} = 13.3$  Hz,  $J_{3a'\alpha,4'\alpha} = 6.2$  Hz,  $J_{3b'\alpha,4'\alpha} = 7.3$  Hz,  $J_{3a'\beta,3b'\beta} = 14.2$  Hz,  $J_{3a'\beta,4'\beta} = 7.4$  Hz,  $J_{3b'\beta,4'\beta} = 3.6$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.7$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.8$  Hz,  $J_{4',5'} = 9.4$  Hz,  $J_{6',7'} = 9.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 177.2 (C-1), 104.6 (C-2'α, C-2'β), 98.5 (C-1'), 96.8 (C-2), 88.0 (C-5'β), 87.6 (C-5'α), 73.5-68.2 (C-5, C-6, C-7, C-8, C-4', C-2', C-3', C-5'), 68.2 (C-9), 66.5 (C-4), 60.9 (C-6'), 47.1 ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>), 44.5 (C-3'β), 43.9 (C-3'α) 34.0 (C-3), 8.6 ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>).

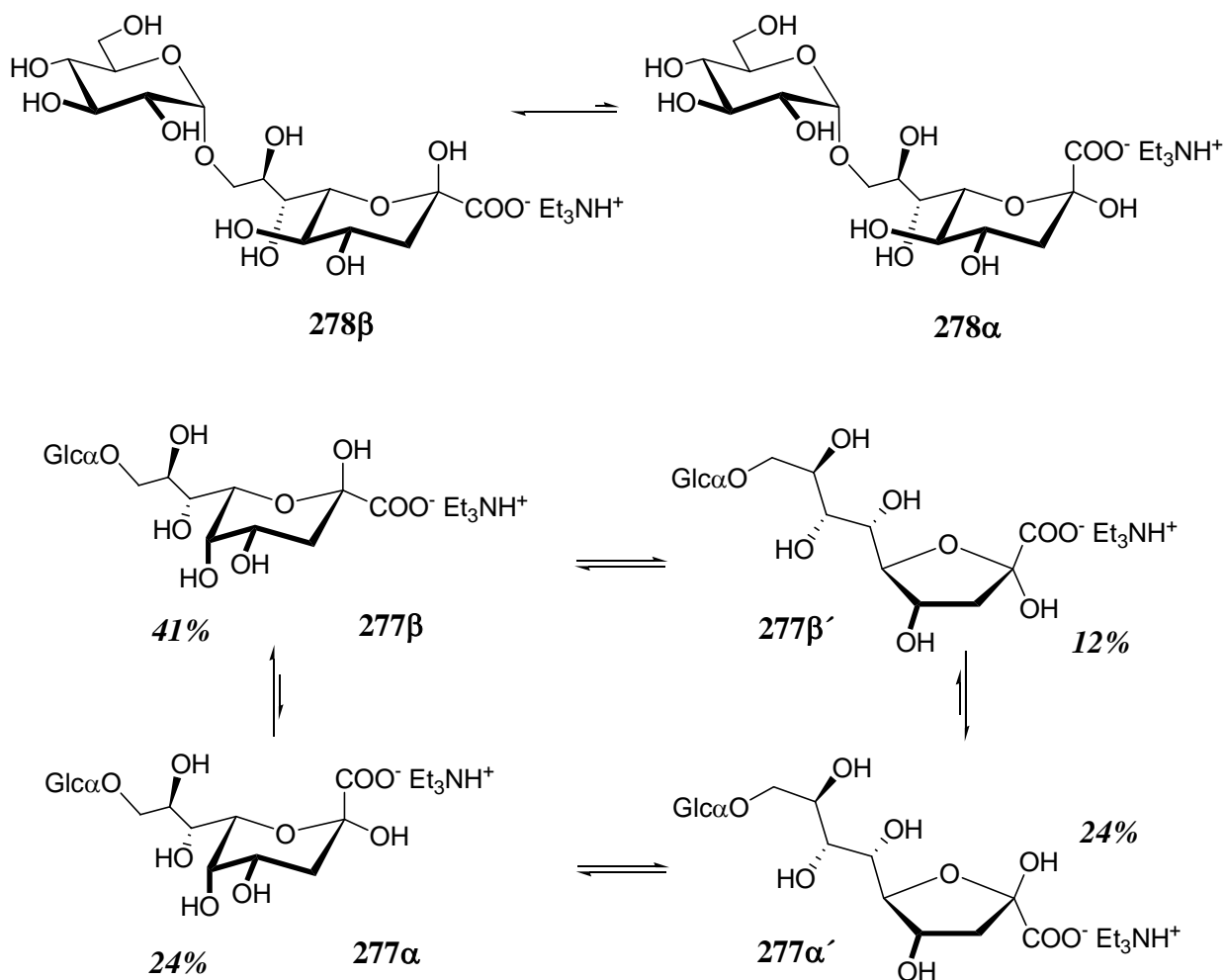
C<sub>21</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>14</sub> 531.55

**Triethylammoniumhydrogen-9-*O*- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-3-desoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonat (278)**

$\alpha$ Glc(1 $\rightarrow$ 9)-KDN

**Triethylammoniumhydrogen-9-*O*- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-3-desoxy-D-glycero-D-gulo-non-2-ulosonat (277)**

$\alpha$ Glc(1 $\rightarrow$ 9)-5-*epi*-KDN



**Enzymatische Umsetzung von Isomaltose/Epiisomaltose **221** 77:23 nach AAV **9a****

Ansatz: 142 mg (0.42 mmol) Isomaltose/Epiisomaltose **221** 77:23  
 473 mg (4.2 mmol, 10 Äq.) Na-Pyruvat  
 25  $\mu$ L 1 M NaN<sub>3</sub>  
 500  $\mu$ L 0.1 M Puffer  
 5 mg Aldolase  
 5.5 mL Gesamtvolumen, 76 mM Substratkonzentration

4 d, 35°C

Ausbeute: 89 mg (0.17 mmol, 40%) des Produktgemischs aus **278/277** 65:35 als farblloses Triethylammoniumhydrogensalz. Pyranoide/furanoide Form (**277/277'**) **65:35**

$R_f = 0.24$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

## 278

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 4.93$  (d, 1 H, 1'-H), 4.05-3.66 (m, 10 H, 4-H, 6-H, 7-H, 8-H, 9-Ha, 9-Hb, 3'-H, 4'-H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.59-3.53 (m, 2 H, 2'-H, 5-H), 3.46 (d, 1 H, 5'-H), 3.19 (q, 2 H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH}^+$ ), 2.29 (dd, 1 H, 3-Ha $\alpha$ ), 2.16 (dd, 1 H, 3-Ha $\beta$ ), 1.77 (dd, 1 H, 3-Hb $\beta$ ), 1.59 (dd, 1 H, 3-Hb $\alpha$ ), 1.27 (t, 2 H,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH}^+$ );  $J_{3\text{äq},4} = 5.1$  Hz,  $J_{3\text{ax},4} = 11.2$  Hz,  $J_{3\text{äq},3\text{ax}} = 13.0$  Hz,  $J_{4,5} = 9.5$  Hz,  $J_{5,6} = 9.5$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.7$  Hz.

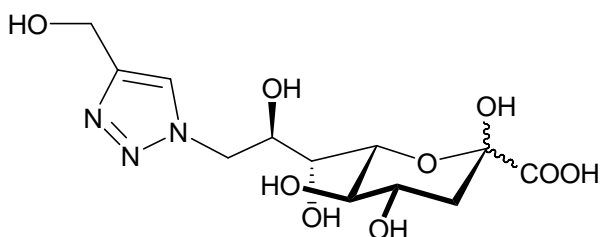
**$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 177.2$  (C-1), 98.6 (C-1'), 96.8 (C-2), 73.5 (C-6), 72.1, 72.0, 71.8, 70.8, 70.0, 69.6, 69.3, 68.2 (C-5, C-7, C-8, C-4', C-2', C-3', C-5'), 69.2 (C-9), 68.2 (C-4), 60.9 (C-6'), 47.1 ( $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH}^+$ ), 39.5 (C-3), 8.6 ( $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH}^+$ ).

## 277

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):** 4.42 (m, 2 H, 4-H' $\alpha$ , 4-H' $\beta$ ), 4.29 (dd, 1 H, 5-H' $\beta$ ), 2.68 (dd, 1 H, 3-Ha' $\beta$ ), 2.57 (dd, 1 H, 3-Ha $\alpha$ ), 2.37 (dd, 1 H, 3-Ha' $\alpha$ ), 2.04 (dd, 1 H, 3-Hb $\alpha$ ), 1.99 (dd, 1 H, 3-Hb $\beta$ ), 1.99 (m, 1 H, 3-Ha $\beta$ );  $J_{3\text{a}\alpha,3\text{b}\alpha} = 14.2$  Hz,  $J_{3\text{a}\alpha,4\alpha} = 7.4$  Hz,  $J_{3\text{b}\alpha,4\alpha} = 3.6$  Hz,  $J_{3\text{a}\alpha,3\text{b}\alpha} = 12.9$  Hz,  $J_{3\text{a}\beta,4\beta} = 12.9$  Hz,  $J_{3\text{a}'\alpha,3\text{b}'\alpha} = 12.6$  Hz,  $J_{3\text{a}'\alpha,4'\alpha} = 5.0$  Hz,  $J_{3\text{a}'\beta,3\text{b}'\beta} = 13.3$  Hz,  $J_{3\text{a}'\beta,4'\beta} = 6.9$  Hz.

$\text{C}_{21}\text{H}_{41}\text{NO}_{14}$  531.55

**3,9-Didesoxy-9-((4-hydroxymethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure (281)**



Enzymatische Umsetzung von **228** nach **AAV 9b**

Ansatz: 132 mg (0.51 mmol) **228**  
 389 mg Na-Pyruvat (3.54 mmol, 7 Äq.)  
 15 µL 1 M NaN<sub>3</sub>  
 12.5 mg Aldolase  
 300 µL Puffer  
 2.515 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 3 d

Ausbeute: 174 mg (0.5 mmol, 98 %) als farbloser Feststoff

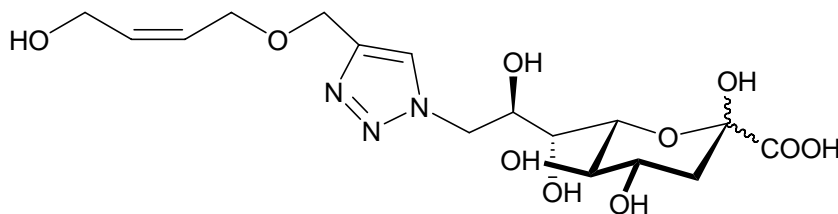
$R_f = 0.38$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 7.97 (s, 1 H, 10-H), 4.80 (dd, 1 H, 9-Ha), 4.70 (m, 2 H, 12-Ha, 12-Hb), 4.50 (dd, 1 H, 9-Hb), 4.09 (ddd, 1 H, 8-H), 3.97-3.90 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.70 (dd, 1 H, 7-H), 3.50 (dd, 1 H, 5-H), 2.17 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.78 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.9$  Hz,  $J_{3a,4} = 5.1$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.8$  Hz,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $J_{5,6} = 9.6$  Hz,  $J_{6,7} = 1.2$  Hz,  $J_{7,8} = 7.8$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.8$  Hz,  $J_{8,9b} = 8.0$  Hz,  $J_{6a,6b\beta} = 14.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 177. (C-1), 155.7 (C-11), 127.9 (C-10), 97.5 (C-2), 72.9 (C-6), 71.6 (C-5), 70.6, 70.5, 70.3 (C-4, C-7, C-8), 56.0 (C-12), 55.0 (C-9), 40.4 (C-3).

C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub> 349.29

**3,9-Didesoxy-9-(4-(((Z)-4-hydroxybut-2-enyloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure (282)**



Enzymatische Umsetzung von **229** nach **AAV 9b**

Ansatz: 155 mg (0.47 mmol) **229**  
 360 mg Na-Pyruvat (3.28 mmol, 7 Äq.)  
 15 µL 1 M NaN<sub>3</sub>  
 12 mg Aldolase  
 282 µL Puffer  
 2.365 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 3 d

Ausbeute: 190 mg (0.45 mmol, 97 %) als farbloser Feststoff

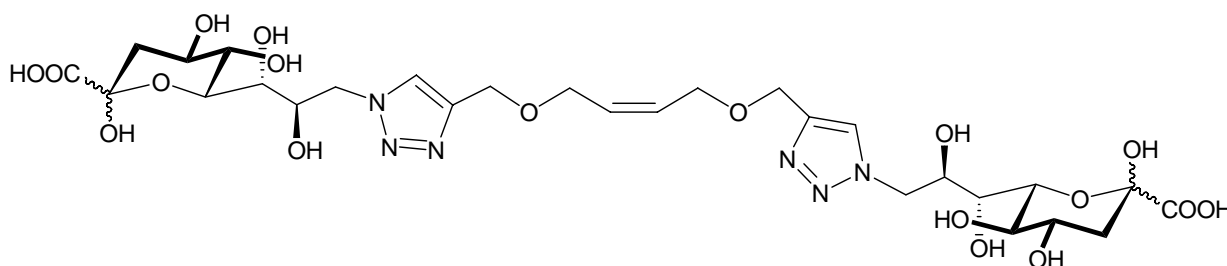
$R_f = 0.48$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 8.00 (s, 1 H, 10-H), 5.77 (m, 1 H, 15-H), 5.66 (m, 1 H, 14-H), 4.80 (dd, 1 H, 9-Ha), 4.62 (m, 2 H, 12-Ha, 12-Hb), 4.49 (dd, 1 H, 9-Hb), 4.11 (dd, 2 H, 13-Ha, 13-Hb), 4.06 (ddd, 1 H, 8-H), 3.96-3.91 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.77 (dd, 1 H, 7-H), 3.54 (dd, 1 H, 5-H), 2.21 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.79 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.9$  Hz,  $J_{3a,4} = 5.1$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.8$  Hz,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $J_{5,6} = 9.6$  Hz,  $J_{6,7} = 1.2$  Hz,  $J_{7,8} = 7.8$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.8$  Hz,  $J_{8,9b} = 8.0$  Hz,  $J_{6a,6b\beta} = 14.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 172.2 (C-1), 142.4 (C-11), 131.2 (C-15), 125.8 (C-14), 124.8 (C-10), 97.1 (C-2), 70.3 (C-6), 68.7 (C-5), 67.9, 67.7, 67.3 (C-4, C-7, C-8), 67.3 (C-13), 63.8 (C-16), 60.8 (C-12), 52.9 (C-9), 37.3 (C-3).

C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>10</sub> 419.38

**3,9-Didesoxy-9-((4-(((Z)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)but-2-enyloxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-1-(D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure)-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure (283)**



Enzymatische Umsetzung von **230** nach **AAV 9b**

Ansatz: 260 mg (0.43 mmol) **230**  
 665 mg Na-Pyruvat (6.02 mmol, 14 Äq.)  
 12 µL 1 M NaN<sub>3</sub>  
 22 mg Aldolase  
 258 µL Puffer  
 2.162 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 3 d

Ausbeute: 308 mg (0.41 mmol, 95 %) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.23$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

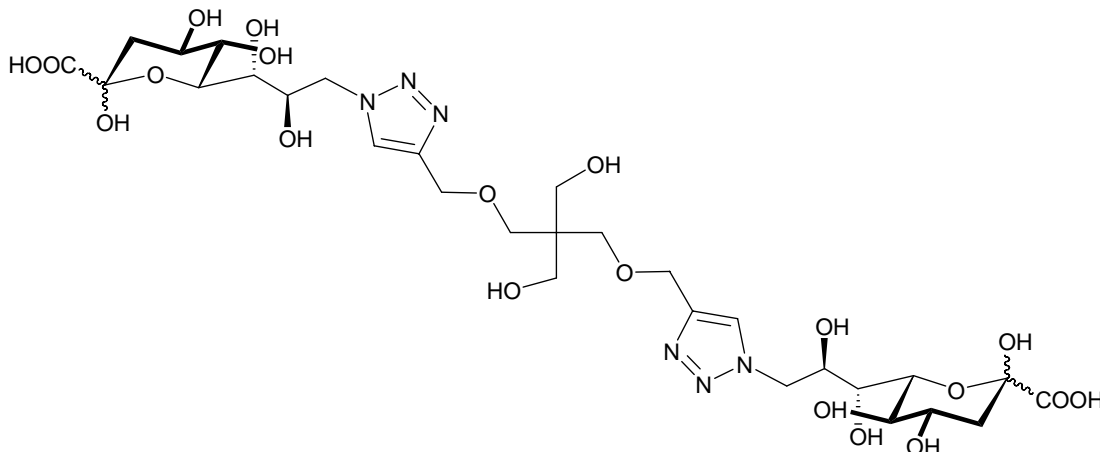
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 7.99 (s, 1 H, 10-H), 5.76 (m, 2 H, 14-H, 15-H), 4.78 (dd, 1 H, 9-Ha), 4.57 (s, 2 H, 12-Ha, 12-Hb), 4.47 (dd, 1 H, 9-Hb), 4.07 (d, 2 H, 13-Ha, 13-Hb), 4.05 (ddd, 1 H, 8-H), 3.95-3.89 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.76 (dd, 1 H, 7-H), 3.52 (dd, 1 H, 5-H), 2.20 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.76 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.9$  Hz,  $J_{3a,4} = 5.1$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.8$  Hz,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $J_{5,6} = 9.6$  Hz,  $J_{6,7} = 1.2$  Hz,  $J_{7,8} = 7.8$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.8$  Hz,  $J_{8,9b} = 8.0$  Hz,  $J_{6a,6b\beta} = 14.4$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 172.6 (C-1), 142.9 (C-11), 128.8 (C-14, C-15), 125.6 (C-10), 94.7 (C-2), 71.0 (C-6), 69.4 (C-5), 68.6, 68.4, 68.0 (C-4, C-7, C-8), 64.6 (C-13), 61.5 (C-12), 53.1 (C-9), 38.0 (C-3).

C<sub>28</sub>H<sub>42</sub>N<sub>6</sub>O<sub>18</sub> 750.66

**2,2-Bis(((1-(3,9-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranos-9-ylonsäure)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)methyl)propan-1,3-diol (284)**

**Bis-9-Triazol-KDN**



**Enzymatische Umsetzung von 234 nach AAV 9b**

Ansatz: 102 mg (0.164 mmol) **234**  
 360 mg Na-Pyruvat (3.28 mmol, 20 Äq.)  
 10 µL 1 M NaN<sub>3</sub>  
 5 mg Aldolase  
 120 µL Puffer  
 0.82 mL Gesamtvolumen, 200 mM Substratkonzentration  
 4 d

Ausbeute: 102 mg (0.13 mmol, 78 %) als farbloser Feststoff

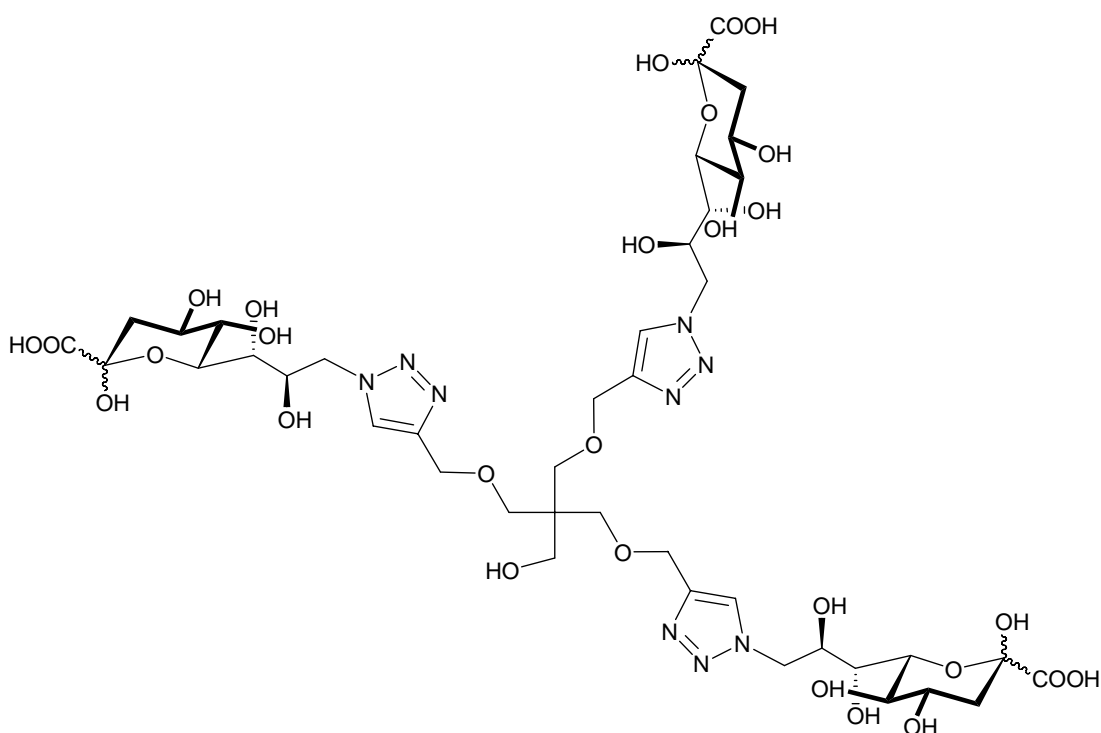
$R_f = 0.17$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 7.97 (s, 1 H, 10-H), 4.77 (dd, 1 H, 9-Ha), 4.54 (s, 2 H, 12-Ha, 12-Hb), 4.47 (m, 1 H, 9-Ha), 4.07 (ddd, 1 H, 4-H), 3.96-3.90 (m, 2 H, 6-H, 8-H), 3.76 (dd, 1 H, 7-H), 3.54 (dd, 1 H, 5-H), 3.46 (s, 2 H, 15-Ha, 15-Hb), 3.40 (s, 2 H, 13-Ha, 13-Hb), 2.18 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.77 (dd, 1 H, 3-Hb) ;  $J_{3a,3b} = 12.9$  Hz,  $J_{3a,4} = 5.1$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.8$  Hz,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $J_{5,6} = 9.6$  Hz,  $J_{6,7} = 1.2$  Hz,  $J_{7,8} = 7.8$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.8$  Hz,  $J_{8,9b} = 8.0$  Hz,  $J_{6a,6b\beta} = 14.4$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 176.9 (C-1), 146.3 (C-11), 128.3 (C-10), 98.1 (C-2), 73.8 (C-6), 72.5 (C-5), 71.6, 71.4, 71.1 (C-4, C-7, C-8), 71.2 (C-13), 65.9 (C-12), 63.3 (C-15), 55.9 (C-9), 47.3 (C-14), 41.1 (C-3).

$\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_{20}$  798.7

**3-((1-(3,9-Didesoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranos-9-ylonsäure)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)-2,2-bis(((3,9-didesoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranos-9-ylonsäure)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)methyl)propan-1-ol (285)**  
**Tri-9-Triazol-KDN (285)**



Enzymatische Umsetzung von **235** nach **AAV 9b**

Ansatz: 146 mg (0.17 mmol) **235**  
 393 mg Na-Pyruvat (3.54 mmol, 21 Äq.)  
 5  $\mu\text{L}$  1 M  $\text{NaN}_3$   
 10 mg Aldolase  
 120  $\mu\text{L}$  Puffer  
 1 mL Gesamtvolumen, 170 mM Substratkonzentration



3 d

Ausbeute: 121 mg (0.11 mmol, 63 %) als farbloser Feststoff

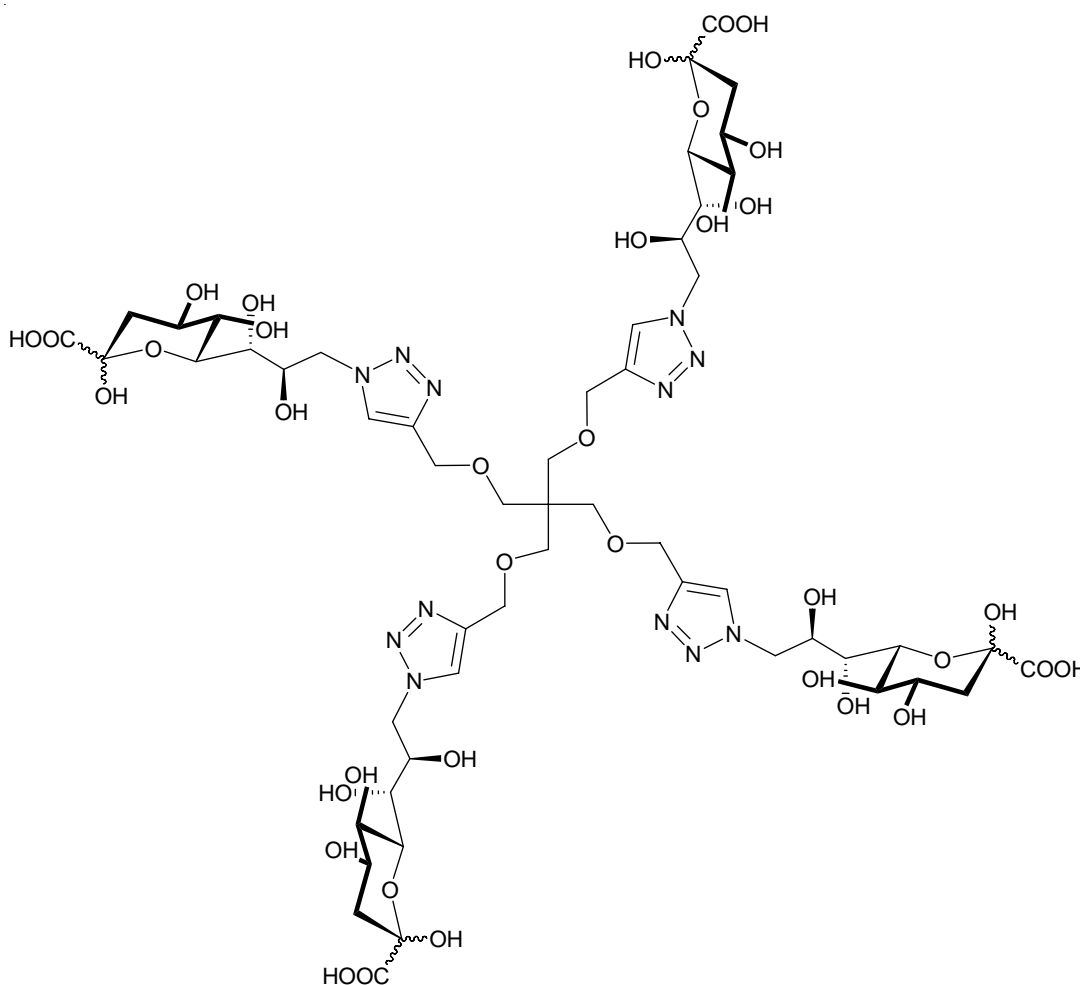
 $R_f = 0.38$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 7.94$  (s, 1 H, 10-H), 4.80 (dd, 1 H, 9-Ha), 4.74 (m, 1 H, 9-Hb), 4.45 (m, 3 H, 4-H, 12-Ha, 12-Hb), 4.02 (ddd, 1 H, 8-H), 3.91 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.74 (dd, 1 H, 7-H), 3.50 (dd, 1 H, 5-H), 3.39 (s, 2 H, 15-Ha, 15-Hb), 3.32 (s, 2 H, 13-Ha, 13-Hb), 2.18 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.75 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.9$  Hz,  $J_{3a,4} = 5.1$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.8$  Hz,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $J_{5,6} = 9.6$  Hz,  $J_{6,7} = 1.2$  Hz,  $J_{7,8} = 7.8$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.8$  Hz,  $J_{8,9b} = 8.0$  Hz,  $J_{6a,6b\beta} = 14.4$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 173.6$  (C-1), 125.6 (C-10), 95.6 (C-2), 71.9 (C-6), 70.3 (C-5), 69.5, 69.3, 69.9 (C-4, C-7, C-8), 68.9 (C-13), 63.7 (C-12), 61.1 (C-15), 54.1 (C-9), 45.1 (C-14), 38.9 (C-3).

 $\text{C}_{41}\text{H}_{63}\text{N}_9\text{O}_{28}$  1129.98

**4-((3-(3,9-Didesoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranos-9-ylonsäure)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)-2,2-bis(((3,9-Didesoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranos-9-ylonsäure)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)methyl)propoxy)methyl-1-(3,9-Didesoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranos-9-ylonsäure)-1H-1,2,3-triazol (286)**  
**Tetra-9-Triazol-KDN (286)**



Enzymatische Umsetzung von **236** nach **AAV 9b**

Ansatz:	251 mg (0.23 mmol) <b>236</b>
	708 mg Na-Pyruvat (6.44 mmol, 28 Äq.)
	55 µL 1 M NaN <sub>3</sub>
	10 mg Aldolase
	320 µL Puffer
	2.3 mL Gesamtvolumen, 100 mM Substratkonzentration
	4 d
Ausbeute:	293 mg (0.2 mmol, 87%) als farbloser Feststoff

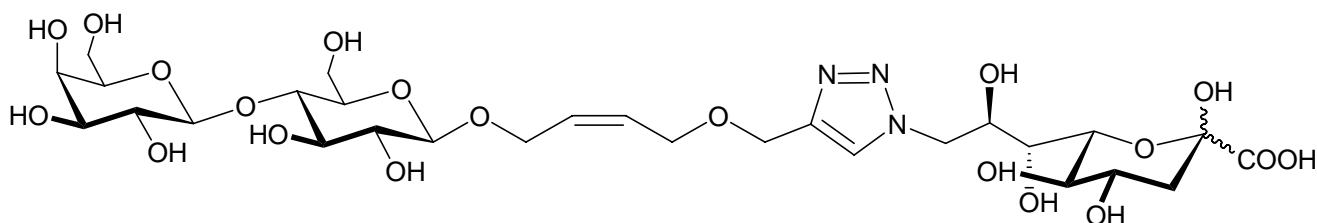
$R_f = 0.08$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 7.92$  (s, 1 H, 10-H), 4.75 (dd, 1 H, 9-Ha), 4.45 (m, 3 H, 9-Hb, 12-Ha, 12-Hb), 4.05 (ddd, 1 H, 8-H), 3.93 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 3.77 (dd, 1 H, 7-H), 3.54 (dd, 1 H, 5-H), 3.32 (s, 2 H, 13-Ha, 13-Hb), 2.18 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.77 (dd, 1 H, 3-Hb);  $J_{3a,3b} = 12.9$  Hz,  $J_{3a,4} = 5.1$  Hz,  $J_{3b,4} = 11.8$  Hz,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $J_{5,6} = 9.6$  Hz,  $J_{6,7} = 1.2$  Hz,  $J_{7,8} = 7.8$  Hz,  $J_{8,9a} = 2.8$  Hz,  $J_{8,9b} = 8.0$  Hz,  $J_{6a,6b\beta} = 14.4$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 174.8$  (C-1), 126.3 (C-10), 96.1 (C-2), 71.9 (C-6), 70.3 (C-5), 69.6, 69.5, 69.1 (C-4, C-7, C-8), 68.5 (C-13), 63.8 (C-12), 54.0 (C-9), 44.8 (C-14), 39.2 (C-3).

$\text{C}_{53}\text{H}_{80}\text{N}_{12}\text{O}_{36}$  1461.26

**3,9-Didesoxy-9-(4-(((Z)-4-( $\beta$ -D-lactosyl)-but-2-enyloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure (287)**  
**Bis-9-Triazol-KDN (287)**



Enzymatische Umsetzung von **240** nach **AAV 9b**

Ansatz: 35 mg (0.05 mmol) **240**  
 41 mg Na-Pyruvat (0.37 mmol, 7 Äq.)  
 2  $\mu\text{L}$  1 M  $\text{NaN}_3$   
 3.5 mg Aldolase  
 40  $\mu\text{L}$  Puffer  
 0.34 mL Gesamtvolumen, 160 mM Substratkonzentration  
 3 d

Ausbeute: 10 mg (0.013 mmol, 25%) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.22$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 8.05$  (bs, 1 H, 10-H), 5.71 (bs, 2 H, 11-H, 12-H), 4.70 (d, 1 H, 9-Ha), 4.52 (bs, 2 H, 12-Ha, 12-Hb), 4.42 (m, 1 H, 9-Hb), 4.33 (d, 1 H, 1'-H), 4.30 (d, 1 H, 1''-H), 4.24 (dm, 2 H, 16-Ha, 16-Hb), 4.09 (bs, 2 H, 13-Ha, 13-Hb), 3.97 (m, 1 H, 8 -H), 3.85-3.75 (m, 4 H, 4-H, 6-H, 6'-H, 4''-H), 3.68-3.55 (m, 4 H, 7-H, 6'-Hb, 6''-Ha, 6''-Hb), 3.57 (m, 1 H, 5''-H), 3.54-3.46 (m, 3 H, 3'-H, 4'-H, 3''-H), 3.43 (dd, 1 H, 5-H), 3.39 (m, 1 H, 2''-H), 3.16 (dd, 1 H, 2'-H), 2.06 (dd, 1 H, 3-Ha), 1.67 (dd, 1 H, 3-Hb) ;

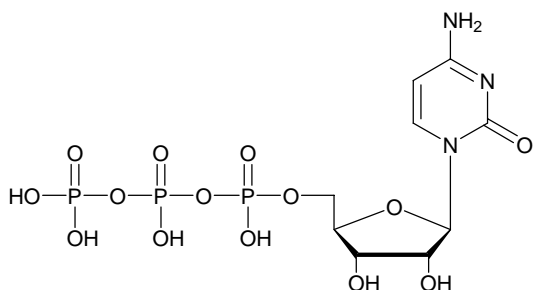
$J_{1\alpha,2\alpha} = 1.7$  Hz,  $J_{1\beta,2\beta} = 2.5$  Hz,  $J_{2\alpha,3\alpha} = 3.4$  Hz,  $J_{3\alpha,4\alpha} = 9.7$  Hz,  $J_{3\beta,4\beta} = 9.9$  Hz,  $J_{5,6b\alpha} = 7.8$  Hz,  $J_{5,6\beta} = 7.7$  Hz,  $J_{6a,6b\alpha} = 14.5$  Hz,  $J_{6a,6b\beta} = 14.4$  Hz,  $J_{1',2'} = 8.0$  Hz,  $J_{1'',2''} = 7.8$  Hz,  $J_{2',3'} = 8.7$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 175.3$  (C-1), 127.9, 127.6 (C-14, C-15), 101.3 (C-1'), 99.3 (C-1'), 76.7 (C-4'), 73.7 (C-5'), 73.2 (C-5'), 72.8 (C-3'), 71.2 (C-2'), 70.9 (C-3'), 69.9 (C-6), 69.4 (C-2'), 68.5 (C-5), 67.5 (C-4, C-8), 67.2 (C-7), 67.0 (C-4'), 63.6 (C-13), 63.1 (C-15), 59.4 (C-6'), 58.5 (C-6'), 52.2 (C-9), 37.2 (C-3).

$\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_{17}$  743.66

## Cytidin-5'-triphosphat (288)

### CTP



7.296 g (35.4 mmol) PEP ( $\text{K}_1$ -Salz) werden in 30 mL Wasser gelöst und in einen 50 mL Zentrifugenbecher aus Kunststoff gegeben. Nach Einstellen des pH-Werts mit 2 N NaOH auf pH 8.5 werden 5 g (13.6 mmol) CMP ( $\text{K}_2$ -Salz) und 1 mL einer Lösung bestehend aus 1.3 M

MgCl<sub>2</sub> und 3.8 M Ammoniumchlorid zugesetzt. Eventuell vorhandenes Phosphat wird unter diesen Bedingungen als Mg-Ammonium-Salz gefällt und durch Zentrifugation von der Reaktionslösung abgetrennt. Das Zentrifugat wird in einen mit einem Thermostaten ausgerüsteten Glasreaktor übergeführt und mit 4.18 g (20.6 mmol) MgCl<sub>2</sub>·6 H<sub>2</sub>O, 140 mg (0.25 mmol) CTP und 14 µL 2-Mercaptoethanol versetzt. Anschließend werden 2 mL (7630 U) Pyruvatkinase und 1 mL (5000 U) Myokinase (Adenylatkinase) zugegeben und der pH-Wert auf pH 8.0 nachjustiert.

Der Ansatz wird 13 d bei 25°C gerührt und der pH-Wert durch Zutropfen von 2 N HCl über eine peristaltische Pumpe und eine damit verbundene automatische pH-Kontrolle bei einem konstanten Wert von 8.0 gehalten. Wird nach einigen Tagen kein weiterer Verbrauch von HCl mehr beobachtet (ca. 25.5 mL nach 8 d), wird zuerst nach 8 d mit zusätzlich 655 µL (2500 U) Pyruvatkinase und 330 µL (1500 U) Myokinase bzw. nach 10 d mit weiteren 260 µL (1000 U) Pyruvatkinase und 110 µL (500 U) Myokinase versetzt. Nach 13 d wird die Reaktion abgebrochen. Der gesamte Verbrauch von 2 N HCl beträgt ca. 49.7 mL.

Denaturiertes Enzym und ausgefallenes anorganisches Phosphat wird durch 15 minütiges Zentrifugieren abgetrennt und das Produkt durch Zugabe von EtOH (1:1, v/v) bei -20°C gefällt. Abschließend wird das farblose Produkt abgesaugt, in wenig Wasser aufgenommen und lyophilisiert.

$R_f = 0.48$  (EtOH/NH<sub>3</sub> 2:3)

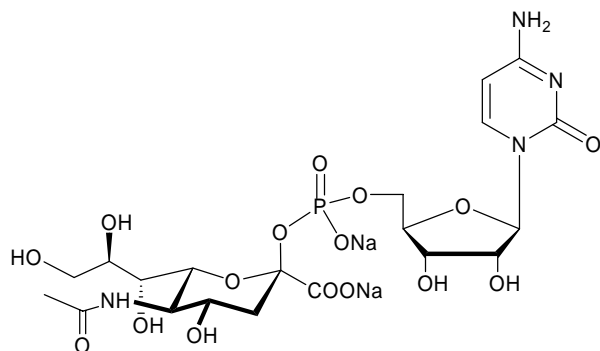
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 7.84 (d, 1 H,  $J = 7.6$  Hz, 6'-H), 6.06 (d, 1 H,  $J = 7.6$  Hz, 5'-H), 5.92 (d, 1 H, 1-H), 4.30 (dd, 1 H, 4-H), 4.25 (dd, 1 H, 2-H), 4.24-4.18 (m, 3 H, 3-H, 5-Ha, 5-Hb);  $J_{1,2} = 4.4$  Hz,  $J_{2,3} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4} = 5.1$  Hz,  $J_{4,5a} = 5.1$  Hz,  $J_{4,5b} = 8.0$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):** δ = 166.6 (C-4'), 158.2 (C-2'), 141.8 (C-6'), 97.0 (C-5'), 89.7 (C-1), 82.9 (C-4), 74.5 (C-2), 69.6 (C-3), 65.3 (C-5).

C<sub>9</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>14</sub>P<sub>3</sub>      483.16

**Cytidin-5'-monophospho-5-acetamido-3,5-dideoxy- $\beta$ -D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure (289)**

**CMP-Neu5Ac**



**Enzymatische CMP-Aktivierung von Neu5Ac **241** nach AAV **10****

**Ansatz:** 500 mg (1.6 mmol) Neu5Ac **241**  
 1.8 g (3.2 mmol, 2 Äq.) CTP  
 400  $\mu$ L (200 U) anorganische Pyrophosphatase  
 2 mL CMP-Sialat-Synthetase Enzymlösung  
 in 40 mL Puffer

**Ausbeute:** 880 mg (1.34 mmol, 84%) als farbloser Feststoff nach Chromatographie an Biogel P 2 fine

$R_f = 0.62$  ( $\text{NH}_3/\text{EtOH}$  1:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 7.88$  (d, 1 H,  $J = 7.6$  Hz, 6'-H), 6.03 (d, 1 H,  $J = 7.6$  Hz, 5'-H), 5.90 (d, 1 H, 1-H), 4.26 (dd, 1 H, 4-H), 4.22 (dd, 1 H, 2-H), 4.15 (m, 3 H, 3-H, 5-Ha, 5-Hb), 4.05 (dd, 1 H, 6''-H), 3.98 (ddd, 1 H, 4''-H), 3.86 (dd, 1 H, 5''-H), 3.84 (ddd, 1 H, 8''-H), 3.79 (dd, 1 H, 9''-Ha), 3.53 (dd, 1 H, 9''-Hb), 3.36 (dd, 1 H, 7''-H), 2.40 (dd, 1 H, 3''-Ha), 1.56 (ddd, 1 H, 3''-Hb);  $J_{1,2} = 4.4$  Hz,  $J_{2,3} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4} = 5.1$  Hz,  $J_{4,5a} = 5.1$  Hz,  $J_{4,5b} = 8.0$  Hz,  $J_{3'a,3'b} = 13.3$  Hz,  $J_{3'a,4''} = 4.8$  Hz,  $J_{3'b,4''} = 6.4$  Hz,  $J_{4'',5''} = 10.3$  Hz,  $J_{5'',6''} = 10.5$  Hz,  $J_{6'',7''} = 1.0$  Hz,  $J_{7'',8''} = 9.7$  Hz,  $J_{8'',9'a} = 2.6$  Hz,  $J_{8'',9'b} = 6.6$  Hz,  $J_{9'a,9'b} = 11.7$  Hz.

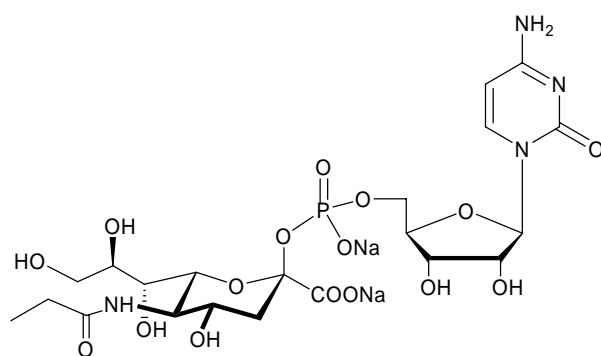
**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 174.3, 173.9$  (NHAc, C-1'), 165.8 (C-4'), 157.4 (C-2'), 141.2 (C-6'), 99.6 (C-2''), 96.2 (C-5'), 88.6 (C-1), 82.5 (C-4), 73.8 (C-2), 71.3 (C-6''), 69.1 (C-3), 68.9 (C-8''), 68.4 (C-7''), 66.4 (C-4''), 64.4 (C-5), 62.5 (C-9''), 51.4 (C-5'), 40.7 (C-3''), 21.6 (NHAc).

$\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{Na}_2\text{O}_{16}\text{P}$

658.41

### Cytidin-5'-monophospho-*N*-propanoylneuraminsäure (290)

#### CMP-Neu5Prop



#### Enzymatische CMP-Aktivierung von Neu5Prop **242** nach **AAV 10**

Ansatz: 822 mg (3.5 mmol) Neu5Prop **242**  
 2.953 g (5.25 mmol, 1.5 Äq.) CTP  
 200  $\mu\text{L}$  (100 U) anorganische Pyrophosphatase  
 4.375 mL CMP-Sialat-Synthetase Enzymlösung  
 in 88 mL Puffer

Ausbeute: 1.8 g (2.69 mmol, 77%) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.87$  ( $\text{NH}_3/\text{EtOH}$  2:3)

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 7.89$  (d, 1 H,  $J = 7.6$  Hz, 6'-H), 6.06 (d, 1 H,  $J = 7.6$  Hz, 5'-H), 5.92 (d, 1 H, 1-H), 4.28 (dd, 1 H, 4-H), 4.24 (dd, 1 H, 2-H), 4.17 (m, 3 H, 3-H, 5-Ha, 5-Hb), 4.08 (dd, 1 H, 6''-H), 4.01 (ddd, 1 H, 4''-H), 3.90 (dd, 1 H, 5''-H), 3.87 (ddd, 1 H,

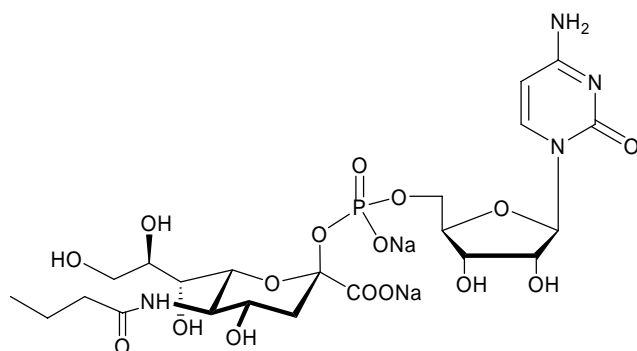
8''-H), 3.82 (dd, 1 H, 9''-Ha), 3.56 (dd, 1 H, 9''-Hb), 3.38 (dd, 1 H, 7''-H), 2.43 (dd, 1 H, 3''-Ha), 2.25 (ddd, 2 H, 11''-Ha, 11''-Hb), 1.59 (ddd, 1 H, 3''-Hb), 1.07 (t, 3 H, 12'''-H);  $J_{1,2} = 4.4$  Hz,  $J_{2,3} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4} = 5.1$  Hz,  $J_{4,5a} = 5.1$  Hz,  $J_{4,5b} = 8.0$  Hz,  $J_{3''a,3''b} = 13.3$  Hz,  $J_{3''a,4''} = 4.8$  Hz,  $J_{3''b,4''} = 6.4$  Hz,  $J_{4'',5''} = 10.3$  Hz,  $J_{5'',6''} = 10.5$  Hz,  $J_{6'',7''} = 1.0$  Hz,  $J_{7'',8''} = 9.7$  Hz,  $J_{8'',9''a} = 2.6$  Hz,  $J_{8'',9''b} = 6.6$  Hz,  $J_{9''a,9''b} = 11.7$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 179.1$  (C-10''), 174.8 (C-1'), 166.6 (C-4'), 158.2 (C-2'), 142.0 (C-6'), 100.5 (C-2''), 97.0 (C-5'), 89.5 (C-1), 83.3 (C-4), 74.6 (C-2), 72.2 (C-6''), 70.1 (C-3), 69.8 (C-8''), 69.3 (C-7''), 67.1 (C-4''), 65.3 (C-5), 63.0 (C-9''), 52.1 (C-5'), 41.5 (C-3'), 29.7 (C-11''), 10.0 (C-12').

$\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{Na}_2\text{O}_{16}\text{P}$  672.44

### Cytidin-5'-monophospho-*N*-butanoylneuraminsäure (291)

#### CMP-Neu5But



### Enzymatische CMP-Aktivierung von Neu5PBut **243** nach AAV **10**

Ansatz: 392 mg (1.57 mmol) Neu5But **243**  
 1.325 g (2.352 mmol, 1.5 Äq.) CTP  
 90  $\mu\text{L}$  (45 U) anorganische Pyrophosphatase  
 1.963 mL CMP-Sialat-Synthetase Enzymlösung  
 in 40 mL Puffer

Ausbeute : 1.8 g (2.69 mmol, 77%) als farbloser Feststoff



$R_f = 0.50$  ( $\text{NH}_3/\text{EtOH}$  1:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 7.96$  (d, 1 H,  $J = 7.6$  Hz, 6'-H), 6.12 (d, 1 H,  $J = 7.6$  Hz, 5'-H), 5.98 (d, 1 H, 1-H), 4.34 (dd, 1 H, 4-H), 4.31 (dd, 1 H, 2-H), 4.23 (m, 3 H, 3-H, 5-Ha, 5-Hb), 4.15 (dd, 1 H, 6''-H), 4.06 (ddd, 1 H, 4''-H), 3.95 (dd, 1 H, 5''-H), 3.94 (ddd, 1 H, 8''-H), 3.88 (dd, 1 H, 9''-Ha), 3.62 (dd, 1 H, 9''-Hb), 3.45 (dd, 1 H, 7''-H), 2.49 (dd, 1 H, 3''-Ha), 2.28 (t, 2 H, 11''-Ha, 11''-Hb), 1.69-1.59 (m, 3 H, 3''-Hb, 12''-Ha, 12''-Hb), 0.92 (t, 3 H, 13''-H);  $J_{1,2} = 4.4$  Hz,  $J_{2,3} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4} = 5.1$  Hz,  $J_{4,5a} = 5.1$  Hz,  $J_{4,5b} = 8.0$  Hz,  $J_{3''a,3''b} = 13.3$  Hz,  $J_{3''a,4''} = 4.8$  Hz,  $J_{3''b,4''} = 6.4$  Hz,  $J_{4'',5''} = 10.3$  Hz,  $J_{5'',6''} = 10.5$  Hz,  $J_{6'',7''} = 1.0$  Hz,  $J_{7'',8''} = 9.7$  Hz,  $J_{8'',9''a} = 2.6$  Hz,  $J_{8'',9''b} = 6.6$  Hz,  $J_{9''a,9''b} = 11.7$  Hz.

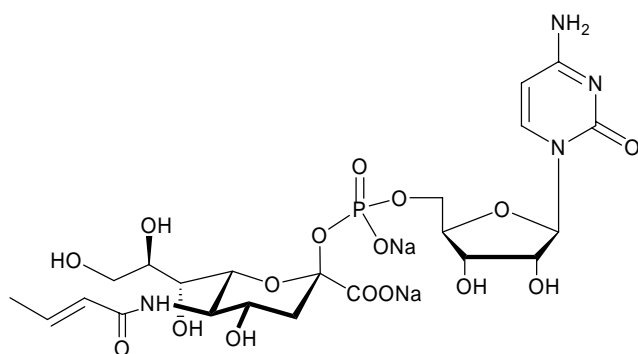
**$^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 178.2$  (C-10'), 174.8 (C-1'), 166.6 (C-4'), 158.2 (C-2'), 142.0 (C-6'), 100.5 (C-2''), 97.0 (C-5'), 89.5 (C-1), 83.3 (C-4), 74.6 (C-2), 72.2 (C-6'), 70.0 (C-3), 69.8 (C-8'), 69.4 (C-7'), 67.2 (C-4'), 65.3 (C-5), 63.4 (C-9'), 52.1 (C-5'), 41.7 (C-3'), 38.4 (C-11'), 19.5 (C-12'), 13.3 (C-13').

$\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{Na}_2\text{O}_{16}\text{P}$

686.47

### Cytidin-5'-monophospho-*N*-crotonylneuraminsäure (292)

#### CMP-Neu5Crot



Enzymatische CMP-Aktivierung von Neu5Crot **244** nach **AAV 10**

Ansatz: 260 mg (0.78 mmol) Neu5Crot **244**

660 mg (1.17 mmol, 1.5 Äq.) CTP

100  $\mu$ L (50 U) anorganische Pyrophosphatase  
0.975 mL CMP-Sialat-Synthetase Enzymlösung  
in 20 mL Puffer

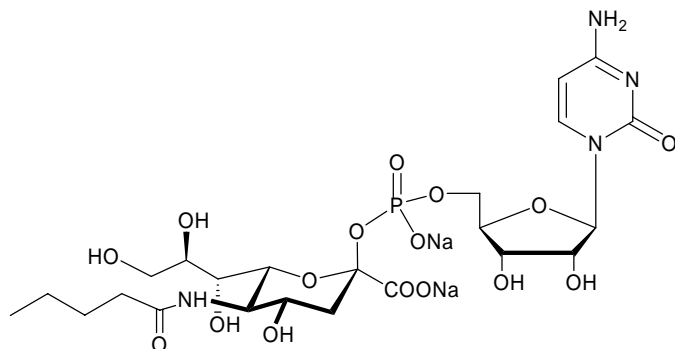
Ausbeute: 442 mg (0.65 mmol, 83%) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.76$  ( $\text{NH}_3/\text{EtOH}$  2:1)

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 7.94$  (d, 1 H,  $J = 7.6$  Hz, 6'-H), 6.77 (dt, 1 H, 12''-H), 6.08 (d, 1 H,  $J = 7.6$  Hz, 5'-H), 5.96 (dd, 1 H, 11''-H), 5.93 (d, 1 H, 1-H), 4.28 (dd, 1 H, 4-H), 4.25 (dd, 1 H, 2-H), 4.19 (m, 3 H, 3-H, 5-Ha, 5-Hb), 4.12 (dd, 1 H, 6''-H), 4.04 (ddd, 1 H, 4''-H), 3.96 (dd, 1 H, 5''-H), 3.88 (ddd, 1 H, 8''-H), 3.82 (dd, 1 H, 9''-Ha), 3.55 (dd, 1 H, 9''-Hb), 3.37 (dd, 1 H, 7''-H), 2.45 (dd, 1 H, 3''-Ha), 1.82 (dd, 1 H, 13''-H), 1.61 (ddd, 1 H, 3''-Hb);  $J_{1,2} = 4.4$  Hz,  $J_{2,3} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4} = 5.1$  Hz,  $J_{4,5a} = 5.1$  Hz,  $J_{4,5b} = 8.0$  Hz,  $J_{3''a,3''b} = 13.3$  Hz,  $J_{3''a,4''} = 4.8$  Hz,  $J_{3''b,4''} = 6.4$  Hz,  $J_{4'',5''} = 10.3$  Hz,  $J_{5'',6''} = 10.5$  Hz,  $J_{6'',7''} = 1.0$  Hz,  $J_{7'',8''} = 9.7$  Hz,  $J_{8'',9''a} = 2.6$  Hz,  $J_{8'',9''b} = 6.6$  Hz,  $J_{9''a,9''b} = 11.7$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta = 174.7$  (C-10'), 170.0 (C-1'), 165.9 (C-4'), 157.3 (C-2'), 143.0 (C-12'), 142.2 (C-6'), 124.1 (C-11'), 100.5 (C-2''), 96.9 (C-5'), 89.5 (C-1), 83.4 (C-4), 74.7 (C-2), 72.3 (C-6''), 70.0 (C-3), 69.7 (C-8'), 69.3 (C-7''), 67.3 (C-4'), 65.3 (C-5), 63.4 (C-9'), 52.2 (C-5''), 41.5 (C-3'), 17.6 (C-13').

$\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{Na}_2\text{O}_{16}\text{P}$  684.45

**Cytidin-5'-monophospho-*N*-pentanoylneuraminsäure (293)****CMP-Neu5Pent****Enzymatische CMP-Aktivierung von Neu5Pent **245** nach AAV 10**

**Ansatz:** 369 mg (1.05 mmol) Neu5Val **245**  
 760 mg (1.575 mmol, 1.5 Äq.) CTP  
 60 µL (30 U) anorganische Pyrophosphatase  
 1.750 mL CMP-Sialat-Synthetase Enzymlösung  
 in 35 mL Puffer

**Ausbeute :** 651 mg (0.93 mmol, 89%) als farbloser Feststoff

$R_f = 0.63$  (NH<sub>3</sub>/EtOH 1:1)

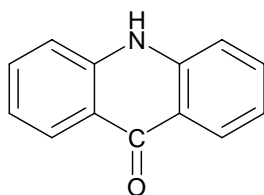
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 7.91 (d, 1 H,  $J$  = 7.6 Hz, 6'-H), 6.06 (d, 1 H,  $J$  = 7.6 Hz, 5'-H), 5.92 (d, 1 H, 1-H), 4.27 (dd, 1 H, 4-H), 4.24 (dd, 1 H, 2-H), 4.17 (m, 3 H, 3-H, 5-Ha, 5-Hb), 4.08 (dd, 1 H, 6''-H), 3.88 (ddd, 1 H, 4''-H), 3.86 (dd, 1 H, 5''-H), 3.87 (ddd, 1 H, 8''-H), 3.82 (dd, 1 H, 9''-Ha), 3.54 (dd, 1 H, 9''-Hb), 3.38 (dd, 1 H, 7''-H), 2.43 (dd, 1 H, 3''-Ha), 2.24 (td, 2 H, 11''-Ha, 11''-Hb), 1.59 (ddd, 1 H, 3''-Hb), 1.53 (m, 2 H, 12''-Ha, 12''-Hb), 1.27 (m, 2 H, 13''-Ha, 13''-Hb), 0.83 (t, 3 H, 14''-H);  $J_{1,2} = 4.4$  Hz,  $J_{2,3} = 4.4$  Hz,  $J_{3,4} = 5.1$  Hz,  $J_{4,5a} = 5.1$  Hz,  $J_{4,5b} = 8.0$  Hz,  $J_{3''a,3''b} = 13.3$  Hz,  $J_{3''a,4''} = 4.8$  Hz,  $J_{3''b,4''} = 6.4$  Hz,  $J_{4'',5''} = 10.3$  Hz,  $J_{5'',6''} = 10.5$  Hz,  $J_{6'',7''} = 1.0$  Hz,  $J_{7'',8''} = 9.7$  Hz,  $J_{8'',9''a} = 2.6$  Hz,  $J_{8'',9''b} = 6.6$  Hz,  $J_{9''a,9''b} = 11.7$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  = 178.4 (C-10'), 174.7 (C-1'), 166.5 (C-4'), 158.0 (C-2'), 142.1 (C-6'), 100.5 (C-2''), 97.0 (C-5'), 89.5 (C-1), 83.3 (C-4), 74.7 (C-2), 72.2 (C-6''), 70.0

(C-3), 69.8 (C-8''), 69.4 (C-7''), 67.2 (C-4''), 65.3 (C-5), 63.4 (C-9''), 52.1 (C-5'), 41.7 (C-3'), 36.2 (C-11'), 28.0 (C-12'), 22.0 (C-13'), 13.4 (C-14').

C<sub>23</sub>H<sub>35</sub>N<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>16</sub>P                      700.49

### 10H-Acridin-9-on (296)



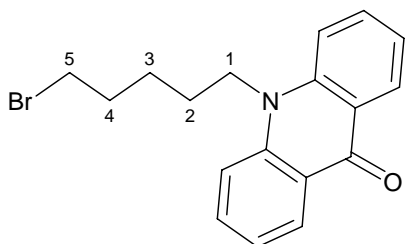
29.12 g (136 mmol) *N*-Phenylanthranilsäure werden in 70 mL konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gelöst und 4 h auf 100°C erhitzt. Die heiße Lösung wird in 1 L kochendes Wasser gegeben und der dabei ausfallende gelbe Feststoff nach 5 min. Erhitzen abfiltriert. Der feuchte Feststoff wird in einer Lösung von 22.5 g NaHCO<sub>3</sub> in 400 mL Wasser 5 min erhitzt, abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Nach Trocknung am Lyophilisator werden 16.74 g (63%) des grün-gelben Produkts erhalten.

*R*<sub>f</sub> = 0.44 (AcOEt/Cyclohexan 4:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>2</sub>, 500 MHz):** δ = 8.17 (dd, 2 H, *J* = 7.9, 1.5 Hz, H<sub>ar.</sub>), 7.66 (ddd, 2 H, *J* = 7.9, 1.5 Hz, H<sub>ar.</sub>), 7.28 (d, 2 H, *J* = 7.7 Hz, H<sub>ar.</sub>), 7.19 (ddd, 2 H, *J* = 7.9, 7.7, 1.5 Hz, H<sub>ar.</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-*d*<sub>2</sub>, 500 MHz):** δ = 177.1 (C=O), 141.3 (N-C), 133.8 (N-C-CHCH), 126.4 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 121.3 (C-C=O), 120.9 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 117.7 (N-C-CH).

C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO                      195.22

**10-(5-Brompentyl)-acridin-9-(10H)-on (297)**

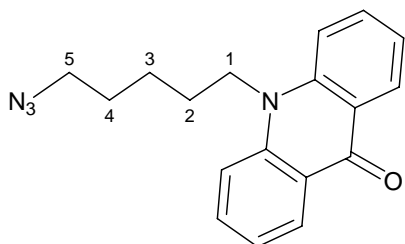
8 g (41 mmol) Acridon **296** werden in 260 mL 50% NaOH suspendiert. 94.8 g (410 mmol, 10 Äq.) 1,5-Dibrompentan, in 200 mL THF gelöst, werden zugegeben und mit 1.6 g (7 mmol, 0.17 Äq.) BTEAC versetzt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch unter Rückfluß für 22 h erhitzt, die organische Phase abgetrennt, der wäßrige Rückstand mit  $\text{CHCl}_3$  (3x50 mL) gewaschen, die organischen Phasen vereinigt und über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Das erhaltene schwarz-braune Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel aufgereinigt (AcOEt/Cyclohexan 1:6). 13.31 g (98%) des gelben Produkts als Feststoff werden erhalten.

$R_f = 0.60$  (AcOEt/Cyclohexan 4:1)

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):**  $\delta = 8.57$  (dd, 2 H,  $J = 7.9, 1.5$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ),  $7.71$  (ddd, 2 H,  $J = 7.9, 1.5$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ),  $7.26$  (d, 2 H,  $J = 7.7$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ),  $7.21$  (ddd, 2 H,  $J = 7.9, 7.7, 1.5$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ),  $4.24$  (dd, 5-Ha, 5-Hb),  $3.45$  (m, 2 H, 1-Ha, 1-Hb),  $1.97$  (m, 2 H, 4-Ha, 4-Hb),  $1.95$  (m, 2 H, 2-Ha, 2-Hb),  $1.72$  (m, 2 H, 3-Ha, 3-Hb).

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):**  $\delta = 178.3$  (C=O),  $142.1$  (N-C),  $134.3$  (N-C-CHCH),  $128.4$  (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>),  $122.9$  (C-C=O),  $121.7$  (O=C-C-CH<sub>acr</sub>),  $114.9$  (N-C-CH),  $46.3$  (C-5),  $33.7$  (C-1),  $32.6$  (C-4),  $26.8$  (C-2),  $25.8$  (C-3).

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{BrNO}$                       344.25

**10-(5-Azidopentyl)-acridin-9-(10H)-on (298)**

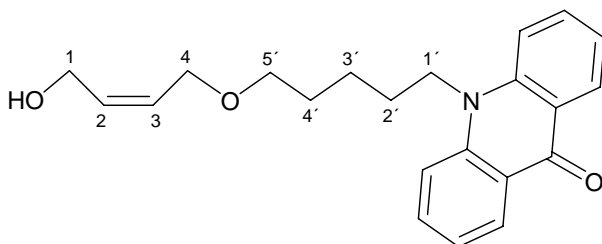
In 130 mL einer Lösung aus DMF/Wasser 3:1 werden 10.945 g (31.95 mmol) Bromid **297** suspendiert, mit 20.8 g (320 mmol, 10 Äq.)  $\text{NaN}_3$  versetzt und bei 80°C für 8 h erhitzt. Nach Zugabe von 650 mL Wasser wird mit  $\text{CHCl}_3$  extrahiert, die organischen Phasen vereinigt, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. 8.16 g (83%) des Azids werden als gelber Feststoff, der sauber genug zum weiteren Verarbeiten ist.

$R_f = 0.54$  (AcOEt/Cyclohexan 4:1)

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):**  $\delta = 8.91$  (dd, 2 H,  $J = 7.9, 1.5$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ),  $7.73$  (ddd, 2 H,  $J = 7.9, 1.5$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ),  $7.50$  (d, 2 H,  $J = 7.7$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ),  $7.28$  (ddd, 2 H,  $J = 7.9, 7.7, 1.5$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ),  $4.37$  (dd, 1-Ha, 1-Hb),  $3.37$  (dd, 2 H, 5-Ha, 5-Hb),  $1.98$  (m, 2 H, 4-Ha, 4-Hb),  $1.73$  (m, 2 H, 2-Ha, 2-Hb),  $1.66$  (m, 2 H, 3-Ha, 3-Hb).

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):**  $\delta = 178.3$  (C=O),  $142.1$  (N-C),  $134.3$  (N-C-CHCH),  $128.4$  (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>),  $122.9$  (C-C=O),  $121.7$  (O=C-C-CH<sub>acr</sub>),  $114.9$  (N-C-CH),  $51.2$  (C-5),  $45.9$  (C-1),  $28.7$  (C-4),  $26.8$  (C-2),  $25.2$  (C-3).

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}$                       306.36

**10-(5-((Z)-4-Hydroxybut-2-enyloxy)pentyl)-acridin-9-(10H)-on (299)**

Unter Argon-Atmosphäre werden 603 mg (1.2 Äq.) NaH (60%) in 60 mL THF vorgelegt und unter Kälte (Eisbad) langsam mit einer Lösung von 7.49 g (85.11 mmol, 6.5 äq) (Z)-But-2-en-1,4-diol in 20 mL THF versetzt. Nach beendeter Wasserstoffentwicklung wird auf Raumtemperatur erwärmt und 4.5 g (13.16 mmol, 1 Äq.) 10-(5-Brompentyl)-acridin-9-(10H)-on **297**, gelöst in 20 mL THF zugegeben. Die Reaktionslösung wird über Nacht unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird der Feststoff filtriert und das Filtrat eingengt. Der Rückstand wird in 200 mL MTBE aufgenommen und mit Wasser (2x50 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingengt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (AcOEt/Cyclohexan 1:1-1:2) werden 3.08 g (8.78 mmol, 67%) des Produkts als gelber Feststoff erhalten.

$R_f = 0.21$  (AcOEt/Cyclohexan 2:1)

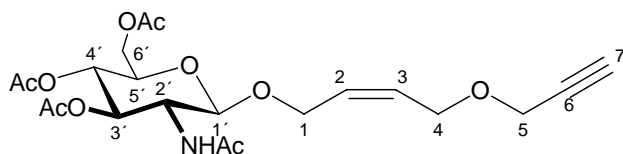
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):**  $\delta$  = 8.51 (dd, 2 H,  $J$  = 7.9, 1.5 Hz, H<sub>ar</sub>), 7.60 (ddd, 2 H,  $J$  = 7.9, 1.5 Hz, H<sub>ar</sub>), 7.43 (d, 2 H,  $J$  = 7.7 Hz, H<sub>ar</sub>), 7.22 (ddd, 2 H,  $J$  = 7.9, 7.7, 1.5 Hz, H<sub>ar</sub>), 5.74 (m, 1 H, 3-H), 5.62 (m, 1 H, 2-H), 4.27 (dd, 5'-Ha, 5'-Hb), 4.13 (dd, 2 H, 4-Ha, 4-Hb), 3.95 (dd, 2 H, 1-Ha, 1-Hb), 3.35 (m, 2 H, 1'-Ha, 1'-Hb), 1.89 (m, 2 H, 4-Ha, 4-Hb), 1.54 (m, 2 H, 2'-Ha, 2'-Hb), 1.34 (m, 2 H, 3'-Ha, 3'-Hb).

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):**  $\delta$  = 178.4 (C=O), 142.2 (N-C), 134.3 (N-C-CHCH), 132.6 (C-3), 128.9 (C-2), 128.4 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 122.9 (C-C=O), 121.6 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 114.9 (N-C-CH), 71.2 (C-5'), 66.9 (C-4), 59.2 (C-1), 46.5 (C-1'), 29.9 (C-4'), 27.4 (C-2'), 24.2 (C-3').

C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>3</sub>

351.54

**1-O-(2-Acetamido-2-desoxy-3,4,6-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-(Z)-4-(prop-2-ynyloxy)but-2-en (300)**



9.78 g (29.7 mmol, 1.5 äq.) Oxazolin **210** und 2.51 g (19.9 mmol, 1 Äq.) Alkohol werden in 6 ml trock.  $\text{CHCl}_3$  vorgelegt, mit 4.01 g (29.8 mmol, 1.5 Äq.)  $\text{CuCl}_2$  (wasserfrei) versetzt und für 5 h unter Rückfluß erhitzt. Der Verlauf der Reaktion wird dünnschichtchromatographisch (AcOEt/Cyclohexan 4:1) kontrolliert. Nach Abschluß der Reaktion wird das Lösemittel eingedampft, in 300 mL AcOEt aufgenommen, mit 1 N HCl (2 x 100 mL), gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (100 mL) und gesättigter NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Einengen des Lösemittels wird das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch aufgereinigt (AcOEt/Cyclohexan 2:1-8:1). 7.42 g (82%) des Glucosids werden als gelb-rötlicher Feststoff erhalten.

$R_f = 0.24$  (AcOEt/Cyclohexan 4:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 5.86$  (d, 1 H, N-H), 5.67 (m, 2 H, 2'-H, 3'-H), 5.23 (dd, 1 H, 3-H), 5.00 (t, 1 H, 4-H), 4.66 (dd, 1 H, 1-H), 4.31-4.27 (m, 1 H, 6-Ha), 4.24-4.20 (m, 2 H, 6-Hb, 1'-H), 4.08-4.03 (m, 4 H, 4'-Ha, 4'-Hb, 5'-Ha, 5'-Hb), 3.80 (ddd, 1 H, 2-H), 3.64 (ddd, 1 H, 5-H), 2.43 (t, 1 H, 7'-H), 2.03, 1.96, 1.95, 1.87 (s, 12 H,  $\text{COCH}_3$ );  $J_{2,\text{NH}} = 8.7$  Hz,  $J_{1,2} = 8.5$  Hz,  $J_{2,3} = 10.5$  Hz,  $J_{3,4} = 9.4$  Hz,  $J_{5',7'} = 2.4$  Hz.

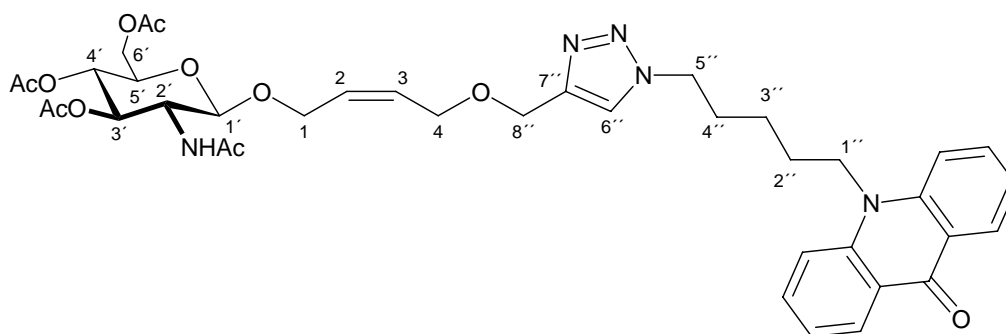
**$^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 171.5$  ( $\text{COCH}_3$ ), 171.1 ( $\text{COCH}_3$ ), 171.0 ( $\text{COCH}_3$ ), 170.7 ( $\text{COCH}_3$ ), 129.7 (C-2'), 129.5 (C-3'), 99.8 (C-1), 80.0 (C-6'), 75.2 (C-7'), 72.8 (C-3), 72.2 (C-5), 69.1 (C-4), 65.3 (C-4'), 64.8 (C-1'), 62.5 (C-6), 57.6 (C-5'), 55.0 (C-2), 23.6 ( $\text{COCH}_3$ ), 21.4 ( $\text{COCH}_3$ ), 21.1 ( $\text{COCH}_3$ ), 21.0 ( $\text{COCH}_3$ ).

$\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{NO}_{10}$

455.46



**10-[5-(4-(((Z)-4-O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucosyloxy)-but-2-enyloxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-pentyl]-acridin-9-(10H)-on (301)**



Zu einer Mischung aus 0.35 g (0.797 mmol, 1.3 Äq.) Glucosid **300** und 0.19 g (0.621 mmol, 1 Äq.) 10-(5-Azid-pentyl)-10H-acridin-9-on **298** in 3 mL EtOH werden zuerst 62 mg (0.311 mmol, 0.5 Äq.) Ascorbinsäure, in 3 mL H<sub>2</sub>O gelöst, vorsichtig zugegeben und anschließend 0.12 mL 1 M CuSO<sub>4</sub>-Lösung zugetopft. Die Reaktionsmischung wird bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Es bildet sich ein rotgelber Feststoff, der am Rührfisch und an der Wand des Kolbens haftet. Die Reaktionsmischung wird filtriert und der rotgelbe Rückstand in MeOH aufgenommen. Das vorher erhaltene Filtrat wird mit CHCl<sub>3</sub> extrahiert und die organischen Phasen vereinigt, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und eingeeengt. Das erhaltene Roprodukt wird an Kieselgel aufgereinigt. Man eluiert zuerst mit AcOEt/Cyclohexan 4:1 das nicht vollständig umgesetzte Azid, um anschließend mit CHCl<sub>3</sub>/MeOH 5:1 das Zielprodukt zu isolieren. Nach dem Entfernen des Lösemittels werden 187 mg (0.245 mmol, 32 %) des gewünschten Produkts als gelbgrüner Feststoff erhalten.

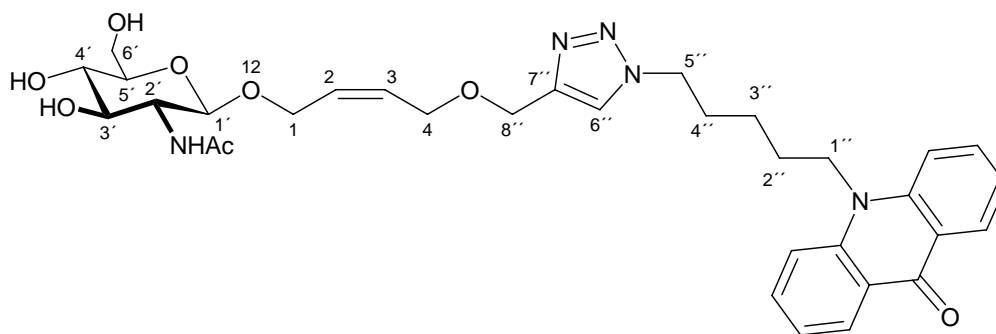
$R_f = 0.59$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 5:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 8.48 (dd, 2 H,  $J$  = 8.0, 1.7 H<sub>ar</sub>), 7.65 (ddd, 2 H,  $J$  = 8.0, 1.7, 8.7 H<sub>ar</sub>), 7.52 (s, 1 H, 6''-H), 7.38 (d, 2 H,  $J$  = 8.7 H<sub>ar</sub>), 7.22 (dd, 2 H, H<sub>ar</sub>), 6.44 (d, 1 H, N-H), 5.66 (m, 2 H, 2-H, 3-H), 5.24 (dd, 1 H, 3'-H), 4.99 (dd, 1 H, 4'-H), 4.71 (d, 1 H, 1'-H), 4.54 (d, 2 H, 8''-Ha, 8''-Hb), 4.35 (dd, 2 H, 1''-Ha, 1''-Hb), 4.25 (m, 3 H, 1-Ha, 5''-Ha, 5''-Hb), 4.20-4.12 (m, 2 H, 1-Hb, 6'-Hb), 4.04 (m, 3 H, 4-Ha, 4-Hb, 6'-Hb), 3.83 (ddd, 1 H, 2'-H), 3.62 (ddd, 1 H, 5'-H), 1.99 (m 2 H, 2''-Ha, 2''-Hb), 1.87 (m, 2 H, 4''-Ha, 4''-Hb), 1.56 (m, 2 H, 3''-Ha, 3''-Hb), 2.00, 1.94, 1.93, 1.86 (s, 12 H, COCH<sub>3</sub>);  $J_{1',2'} = 8.5$  Hz,  $J_{2',NH} = 8.3$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.4$  Hz.  $J_{3',4'} = 9.5$  Hz,  $J_{4',5'} = 9.8$ .

**$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):**  $\delta$  = 178.3 (C=O), 171.1, 170.8, 169.8, (OAc), 145.5 (C-7''), 142.0 (N-C), 134.4 (N-C-CHCH), 130.0 (C-2), 129.3 (C-3), 128.4 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 123.2 (C-6''), 122.8 (C-C=O), 121.8 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 114.8 (N-C-CH), 100.2 (C-1'), 72.8 (C-3'), 72.0 (C-5'), 69.2 (C-4'), 66.1 (C-4), 65.2 (C-1), 63.5 (C-8''), 62.6 (C-6'), 55.0 (C-2'), 50.4 (C-1'), 46.0 (C-5''), 30.6 (C-2''), 27.1 (C-4''), 24.2 (C-3''), 23.7, 21.1, 21.0 (COCH<sub>3</sub>).

C<sub>39</sub>H<sub>47</sub>N<sub>5</sub>O<sub>11</sub>            761.82

**10-[5-(4-(((Z)-4-O-(2-Acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucosyloxy)-but-2-enyloxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-pentyl]-acridin-9-(10H)-on (302)**



Entschützung von Glycosid **301** nach **AAV 5**

Ansatz:            60 mg (0.08 mmol) Glycosid **301** in 8 mL MeOH

Ausbeute:        49 mg (0.077 mmol, 98 %) als gelber Feststoff

$R_f$  = 0.13 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 5:1)

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz, MeOD):**  $\delta$  = 8.33 (dd, 2 H,  $J$  = 8.1, 1.6 H<sub>ar</sub>), 7.86 (s, 1 H, 6''-H), 7.72 (ddd, 2 H,  $J$  = 8.0, 1.7, 8.7 H<sub>ar</sub>), 7.62 (d, 2 H,  $J$  = 8.7 H<sub>ar</sub>), 7.22 (dd, 2 H, H<sub>ar</sub>), 5.59 (m, 2 H, 2-H, 3-H), 4.48 (s, 2 H, 8''-Ha, 8''-Hb), 4.38-4.32 (m, 5 H, 1'-H, 1''-Ha, 1''-Hb, 5''-Ha, 5''-Hb), 4.25 (dd, 1 H, 1-Ha), 4.12 (dd, 1 H, 1-Hb), 4.03 (m, 2 H, 4-Ha, 4-Hb), 3.78 (dd, 1 H, 6'-Ha), 3.56 (m, 2 H, 2'-H, 6'-Hb), 3.34 (dd, 1 H, 3'-H), 3.22 (m, 1 H, 4'-H), 3.16 (m, 1 H, 5'-H), 1.93 (m 2 H, 2''-Ha, 2''-Hb), 1.82 (m, 2 H, 4''-Ha, 4''-Hb), 1.45 (m, 2 H, 3''-Ha, 3''-Hb), 1.86 (s, 12 H, COCH<sub>3</sub>);  $J_{2',3'}$  = 10.4 Hz.  $J_{3',4'}$  = 9.5 Hz.

**$^1\text{C-NMR}$  (125 MHz, MeOD):**  $\delta$  = 178.2 (C=O), 172.1, (NCOCH<sub>3</sub>), 144.4 (C-7''), 141.6 (N-C), 134.2 (N-C-CHCH), 128.9 (C-2), 128.6 (C-3), 126.7 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 123.6 (C-6''), 123.6 (C-C=O), 121.5 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 115.2 (N-C-CH), 100.0 (C-1'), 76.5 (C-5'), 74.6 (C-3'), 70.6 (C-4'), 65.4 (C-4), 63.8 (C-1), 62.4 (C-8'''), 61.3 (C-6'), 55.7 (C-2'), 49.5 (C-1'''), 45.2 (C-5'''), 29.3 (C-2'''), 26.1 (C-4'''), 22.9 (C-3'''), 21.5 (COCH<sub>3</sub>).

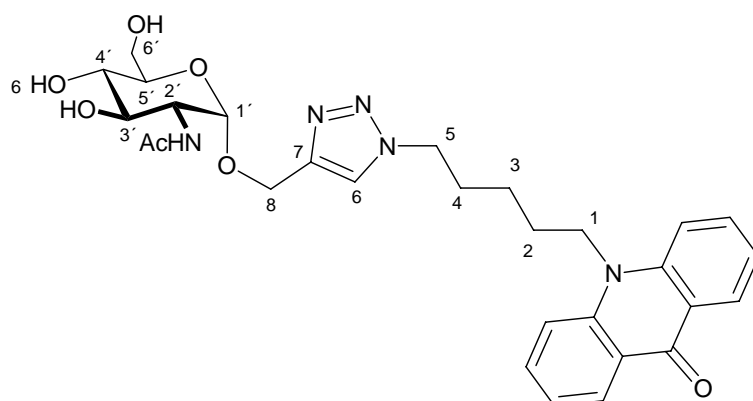
**MS:**

$m/z(\%)$  = 658.3 (100%), 481.3 (2), 455.2 (3).

$\text{C}_{33}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_8$

635.71

**10-[5-((4-*O*-(2-Acetamido-2-desoxy- $\alpha$ -D-glucosyloxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-pentyl]-acridin-9-(10*H*)-on (304)**



**[2+3]-Cycloaddition nach AAV 13**

Ansatz: 385 mg (1.5 mmol) Glycosid **303**

4 mL EtOH

306 mg (1.0 mmol) Acridonazid **298**

0.3 mL Wasser

0.4 mL (0.4 mmol) 1 M Na-Ascorbat-Lösung

0.2 mL (0.2 mmol) 1 M CuSO<sub>4</sub>-Lösung

12 h

Ausbeute: 527 mg (0.93 mmol, 93%) als gelber Feststoff nach Chromatographie über Flash-Kieselgel (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 5:1)

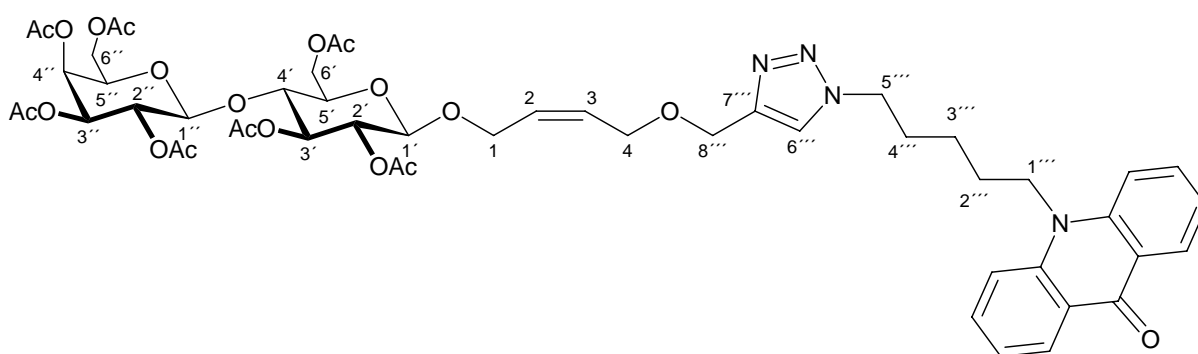
$R_f = 0.28$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  5:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, MeOD):**  $\delta = 8.17$  (dd, 2 H,  $J = 8.1, 1.7 \text{ H}_{\text{ar}}$ ),  $7.76$  (s, 1 H, 6-H),  $7.55$  (ddd, 2 H,  $J = 8.0, 1.7, 8.7 \text{ H}_{\text{ar}}$ ),  $7.44$  (d, 2 H,  $J = 8.7 \text{ H}_{\text{ar}}$ ),  $7.06$  (ddd, 2 H,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ),  $4.67$  (d, 1 H,  $1'-\text{H}$ ),  $4.57$  (d, 1 H, 8-Ha),  $4.46$  (d, 1 H, 8-Hb),  $4.22$  (t, 2 H, 1-Ha, 1-Hb),  $4.16$  (t, 2 H, 5-Ha, 5-Hb),  $3.72$  (dd, 1 H,  $2'-\text{H}$ ),  $3.63$  (dd, 1 H,  $6'-\text{Ha}$ ),  $3.49$  (dd, 1 H,  $6'-\text{Hb}$ ),  $3.46$  (m, 1 H,  $3'-\text{H}$ ),  $3.41$  (m, 1 H,  $5'-\text{H}$ ),  $3.15$  (dd, 1 H,  $4'-\text{H}$ ),  $1.78$  (m 2 H, 2-Ha, 2-Hb),  $1.73$  (s, 3 H,  $\text{COCH}_3$ ),  $1.66$  (m, 2 H, 4-Ha, 4-Hb),  $1.30$  (m, 2 H, 3-Ha, 3-Hb);  $J_{8a,8b} = 12.5 \text{ Hz}$ ,  $J_{1',2'} = 3.6 \text{ Hz}$ ,  $J_{2',3'} = 10.7 \text{ Hz}$ ,  $J_{3',4'} = 8.9 \text{ Hz}$ ,  $J_{4',5'} = 9.7 \text{ Hz}$ ,  $J_{5',6a'} = 2.3 \text{ Hz}$ ,  $J_{6a',6b'} = 11.8 \text{ Hz}$ .

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, MeOD):**  $\delta = 180.1$  (C=O),  $174.0$  ( $\text{NCOCH}_3$ ),  $145.7$  (C-7),  $143.5$  (N-C),  $136.1$  (N-C-CHCH),  $128.6$  ( $\text{O}=\text{C}-\text{C}-\text{CHCH}_{\text{acr}}$ ),  $125.6$  (C-6),  $123.4$  (C-C=O),  $123.1$  ( $\text{O}=\text{C}-\text{C}-\text{CH}_{\text{acr}}$ ),  $117.1$  (N-C-CH),  $98.4$  (C-1'),  $74.7$  (C-5'),  $73.2$  (C-3'),  $72.8$  (C-4'),  $63.2$  (C-6'),  $61.6$  (C-8),  $55.7$  (C-2'),  $51.5$  (C-1),  $47.1$  (C-5),  $31.3$  (C-2),  $28.1$  (C-4),  $24.9$  (C-3),  $23.1$  ( $\text{COCH}_3$ ).

$\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_7$                       565.62

**10-[5-(4-(((Z)-4-O-(Hepta-O-acetyl- $\beta$ -D-lactosyloxy)-but-2-enyloxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-pentyl]-acridin-9-(10H)-on (305)**



[2+3]-Cycloaddition nach **AAV 13**

Ansatz:            372 mg (0.5 mmol) Lactosid **238**  
                       3 mL EtOH  
                       153 mg (0.5 mmol) Acridonazid **298**  
                       0.3 mL Wasser

0.2 mL (0.2 mmol) 1 M Na-Ascorbat-Lösung

0.1 mL (0.1 mmol) 1 M CuSO<sub>4</sub>-Lösung

6 h

Ausbeute: 274 mg (0.26 mmol, 52%) als farbloser Sirup nach Chromatographie über Flash-Kieselgel (AcOEt/Cyclohexan 2:1-8:1)

$R_f = 0.17$  (AcOEt/Cyclohexan 2:1)

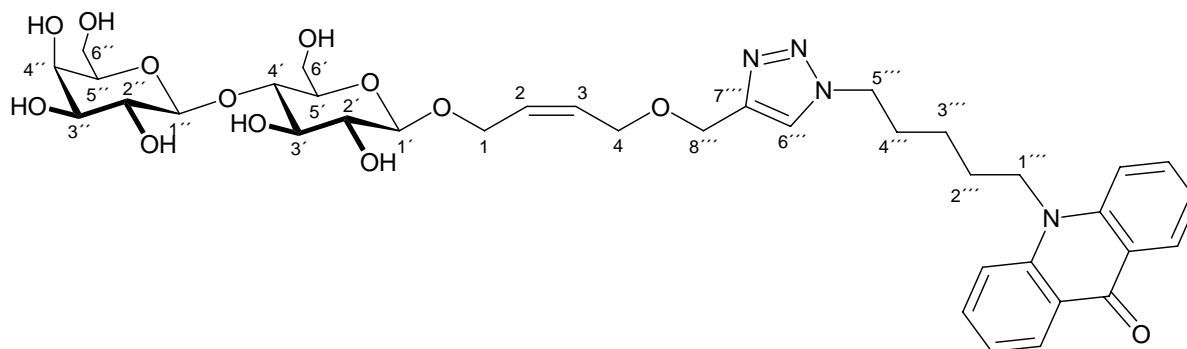
**<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>Cl, 500 MHz):**  $\delta = 8.52$  (d, 2 H,  $J = 8.0, 1.7$  H<sub>ar</sub>), 7.66 (ddd, 2 H,  $J = 8.0, 7.0, 1.8$  H<sub>ar</sub> H<sub>ar</sub>), 7.48 (s, 1 H, 6'''), 7.40 (d, 2 H,  $J = 8.0, 1.7$  H<sub>ar</sub>), 7.23 (ddd, 2 H,  $J = 0.5, 3.2$  H<sub>ar</sub>), 5.71 (m, 1 H, 3-H), 5.66 (m, 1 H, 2-H), 5.28 (d, 1 H, 4''-H), 5.11 (dd, 1 H, 3'-H), 5.03 (dd, 1 H, 2''-H), 4.89 (dd, 1 H, 3''-H), 4.82 (dd, 1 H, 2'-H), 4.56 (s, 2 H, 8'''-Ha, 8'''-Hb), 4.45 (d, 1 H, 1'-H), 4.44 (m 1 H, 6'-Ha), 4.42 (d, 1 H, 1''-H), 4.36 (dd, 2 H, 1'''-Ha, 1'''-Hb), 4.30-4.22 (m, 3 H, 5'''-Ha, 5'''-Hb, 1-Ha), 4.18 (dd, 1 H, 1-Hb), 4.11-3.97 (m, 5 H, 4-Ha, 4-Hb, 6'-Hb, 6''-Ha, 6''-Hb), 3.81 (dd, 1 H, 5''-H), 3.78 (dd, 1 H, 4'-H), 3.52 (ddd, 1 H, 5'-H), 2.07, 2.05, 1.98, 1.97, 1.96, 1.89 (s, 21 H, OAc), 1.98 (m, 2 H, 4'''-Ha, 4'''-Hb), 1.93 (m, 2 H, 2'''-Ha, 2'''-Hb), 1.52 (m, 2 H, 3'''-Ha, 3'''-Hb);  $J_{1,2} = 8.0$  Hz,  $J_{2,3} = 9.5$  Hz,  $J_{3,4} = 9.5$  Hz,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.4$  Hz,  $J_{3',4'} = 3.5$  Hz,  $J_{4',5'} = 0.9$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):**  $\delta = 178.1$  (C=O), 170.7, 170.5, 170.4, 170.1, 170.0, 169.4 (OAc), 145.5 (C-7'''), 142.0 (N-C), 134.5 (N-C-CHCH), 130.2 (C-3), 128.8 (C-2), 128.5 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 122.9 (C-6'''), 122.8 (C-C=O), 121.7 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 114.7 (N-C-CH), 101.5 (C-1'), 99.6 (C-1'), 76.6 (C-4'), 73.2 (C-3'), 73.0 (C-5'), 72.0 (C-2'), 71.3 (C-3''), 71.0 (C-5''), 69.5 (C-2''), 67.0 (C-4''), 66.4 (C-4), 65.1 (C-1), 64.1 (C-8''), 62.3 (C-6'), 61.1 (C-6''), 50.3 (C-1'''), 46.0 (C-5'''), 30.8 (C-2'''), 27.0 (C-4'''), 24.2 (C-3'''). 21.4-20.8 (OAc).

C<sub>51</sub>H<sub>62</sub>N<sub>4</sub>O<sub>20</sub>

1051.05

**10-[5-(4-(((Z)-4-O-( $\beta$ -D-Lactosyloxy)-but-2-enyloxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-pentyl]-acridin-9-(10H)-on (306)**



Entschützung von Lactosid **305** nach **AAV 5**

Ansatz 1: 2.05 g (1.95 mmol) geschütztes Lactosid **305**

Ausbeute 1: 1.42 g (1.87 mmol, 96%) als gelber Sirup

[2+3]-Cycloaddition nach **AAV 13**

Ansatz 2: 1.635 g (3.6 mmol) Lactosid **239**  
 30 mL EtOH  
 1.343 g (4.32 mmol) Acridonazid **298**  
 15 mL Wasser  
 1 mL (1 mmol) 1 M Na-Ascorbat-Lösung  
 0.5 mL (0.5 mmol) 1 M CuSO<sub>4</sub>-Lösung  
 2 h

Ausbeute 2: 2.18 g (2.9 mmol, 80%) als gelber Sirup nach Chromatographie über Flash-Kieselgel (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 4:1)

$R_f = 0.42$  (CHCl<sub>3</sub>/Methanol 2:1)

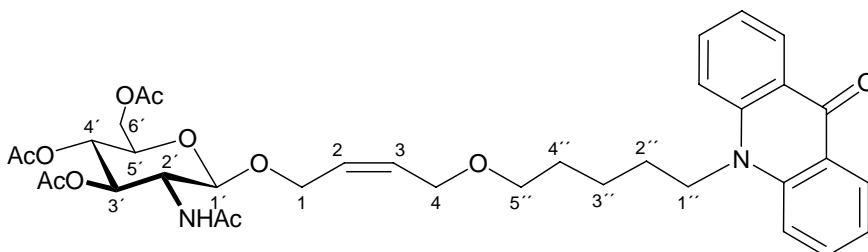
**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 500 MHz):**  $\delta$  = 7.80 (d, 2 H,  $J$  = 7.9, H<sub>ar.</sub>), 7.68 (s, 1 H, 6'''-H), 7.19 (m, 2 H, H<sub>ar.</sub>), 6.84 (m, 2 H, H<sub>ar.</sub>), 6.72 (m, 2 H, H<sub>ar.</sub>), 5.64 (m, 1 H, 3-H), 5.56 (m, 1 H, 2-H), 4.48 (s, 2 H, 8-Ha'', 8-Hb''), 4.46 (d, 1 H, 1''-H), 4.29 (d, 1 H, 1'-H), 4.22 (dd, 1 H, 1-Ha), 4.10 (dd, 1 H, 1-Hb), 4.05 (m, 2 H, 5'''-Ha, 5'''-Hb), 3.93 (d, 2 H, 4-Ha, 4-Hb), 3.87 (d, 1 H, 4''-H), 3.82 (d, 1 H, 6'-Ha), 3.78-3.67 (m, 3 H, 6'-Hb, 6''-Ha, 6''-Hb), 3.66 (m, 1 H, 5''-H),

3.60 (m, 1 H, 3''-H), 3.50 (m, 3 H, 2'-H, 3'-H, 4'-H), 3.38 (m, 1 H, 5'-H), 3.23 (dd, 1 H, 2''-H);  $J_{1',2'} = 8.0$  Hz,  $J_{1'',2''} = 7.9$  Hz,  $J_{2'',3''} = 10.4$  Hz,  $J_{3'',4''} = 3.1$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 125 MHz):**  $\delta = 178.1$  (C=O), 144.3 (C-7'''), 141.0 (N-C), 134.7 (N-C-CHCH), 129.7 (C-3), 129.4 (C-2), 124.8 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 121.8 (C-C=O), 121.0 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 115.2 (N-C-CH), 103.4 (C-1'), 101.6 (C-1'), 78.9 (C-4'), 75.8 (C-5'), 75.2 (C-5'), 74.9 (C-3'), 73.2 (C-2'), 73.0 (C-3'), 71.4 (C-2'), 69.0 (C-4'), 65.7 (C-4), 65.1 (C-1), 62.8 (C-8'''), 61.4 (C-6'), 60.5 (C-6'), 50.2 (C-5'''), 45.6 (C-1'''), 29.3 (C-4'''), 26.2 (C-2'''), 23.1 (C-3''').

$\text{C}_{37}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_{13}$  756.8

**10-[5-(4-(((Z)-4-O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucosyloxy)-but-2-enyloxy)pentyl)]-acridin-9-(10H)-on (307)**



**Variante 1:**

Eine Lösung von 156 mg (0.43 mmol) 2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- $\alpha$ -D-glycopyranosylchlorid **209** in 0.4 mL trockenem Nitromethan wird unter Feuchtigkeitsausschluß tropfenweise zu einer Lösung von 100 mg (0.29 mmol) Acridonalkohol **299**, 107 mg (0.43 mmol)  $\text{Hg}(\text{CN})_2$  und Molsieb in 0.4 mL trockenem Toluol zugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz des Zuckerchlorids wird das erhaltene Rohproduktgemisch säulenchromatographisch aufgereinigt (AcOEt/Cyclohexan 2:1-8:1). 135 mg (0.2 mmol, 69%) des Produkts werden als gelber Sirup erhalten.

**Variante 2:**

5.25 g (16.0 mmol) Oxazolin **210** und 1.42 g (4.1 mmol) Acridonalkohol **299** werden in 50 mL trockenem  $\text{CHCl}_3$  gelöst und auf 50 °C erwärmt. 3.3 g (16.0 mmol) wasserfreies  $\text{CuCl}_2$  werden zugegeben und das Reaktionsgemisch unter Rückfluß über Nacht erhitzt. Nach vollständigem Umsatz der Alkoholkomponente wird das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in AcOEt aufgenommen, mit 1 N HCl (2x50 mL), ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (2x50 mL) und ges. NaCl-Lösung (2x50 mL) gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum eingeeengt. Das erhaltene Rohprodukt wird über Flash-Kieselgel aufgereinigt (AcOEt/Cyclohexan 8:1). 1.75 g (63%) eines hellgelben Feststoffs werden erhalten.

$R_f = 0.15$  (AcOEt/Cyclohexan 4:1)

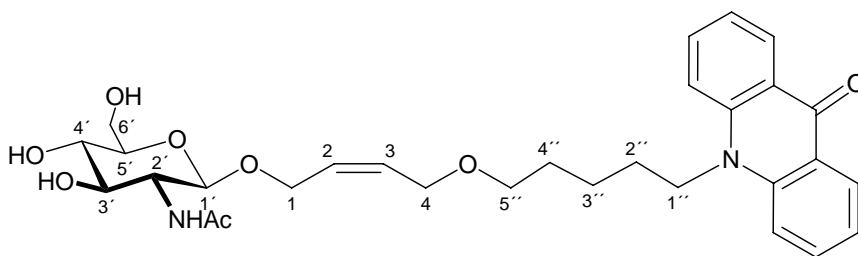
**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta = 8.52$  (dd, 2 H,  $J = 8.0, 1.7 \text{ H}_{\text{ar}}$ ),  $7.67$  (ddd, 2 H,  $J = 8.0, 1.7, 8.7 \text{ H}_{\text{ar}}$ ),  $7.45$  (d, 2 H,  $J = 8.7 \text{ H}_{\text{ar}}$ ),  $7.34$  (dd, 2 H,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ),  $5.80$  (d, 1 H, N-H),  $5.64$  (m, 1 H, 3-H),  $5.55$  (m, 1 H, 2-H),  $5.24$  (dd, 1 H, 3'-H),  $5.00$  (dd, 1 H, 4'-H),  $4.64$  (d, 1 H, 1'-H),  $4.31$  (dd, 2 H, 1''-Ha, 1''-Hb),  $4.26$  (m, 1 H, 1-Ha),  $4.19$  (m, 1 H, 1-Hb),  $4.15$  (m, 1 H, 1-Ha, 6'-Ha),  $4.05$  (m, 1 H, 6'-Hb),  $3.90$  (d, 1 H, 4-Ha, 4-Hb),  $3.80$  (ddd, 1 H, 2'-H),  $3.61$  (ddd, 1 H, 5'-H),  $3.29$  (dd, 2 H, 5''-Ha, 5''-Hb),  $1.95$  (m, 2 H, 2''-Ha, 2''-Hb),  $1.62, 1.48$  (m, 4 H, 4''-Ha, 4''-Hb, 3''-Ha, 3''-Hb),  $2.01, 1.97, 1.96, 1.88$  (s, 12 H,  $\text{COCH}_3$ );  $J_{1',2'} = 8.5 \text{ Hz}$ ,  $J_{2',\text{NH}} = 8.3 \text{ Hz}$ ,  $J_{2',3'} = 10.4 \text{ Hz}$ ,  $J_{3',4'} = 9.5 \text{ Hz}$ ,  $J_{4',5'} = 9.8$ .

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):**  $\delta = 178.5$  (C=O),  $171.2, 171.1, 170.7, 169.8$  (OAc),  $142.2$  (N-C),  $134.4$  (N-C-CHCH),  $131.1$  (C-3),  $128.4$  (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>),  $128.4$  (C-2),  $122.8$  (C-C=O),  $121.7$  (O=C-C-CH<sub>acr</sub>),  $115.0$  (N-C-CH),  $99.9$  (C-1'),  $72.9$  (C-3'),  $72.2$  (C-5'),  $71.4$  (C-5''),  $69.1$  (C-4'),  $66.7$  (C-4),  $64.9$  (C-1),  $62.5$  (C-6'),  $55.1$  (C-2'),  $46.6$  (C-5'),  $29.8$  (C-2''),  $27.4$  (C-4''),  $24.3$  (C-3''),  $23.7, 21.1, 21.0$  ( $\text{COCH}_3$ ).

$\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_{11}$                       680.74



**10-[5-(4-(((Z)-4-O-(2-Acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucosyloxy)-but-2-enyloxy)pentyl)]-acridin-9-(10H)-on (308)**



Entschützung von Glycosid **307** nach **AAV 5**

Ansatz 1: 52 mg (0.08 mmol) Glycosid **307** (Variante 1)

Ausbeute 1: 34 mg (0.06 mmol, 80 %) als gelber Feststoff

Ansatz 2: 1.75 g (2.70 mmol) Glycosid **307** (Variante 2)

Ausbeute 2: 1.40 g (2.52 mmol, 93 %) als gelber Feststoff

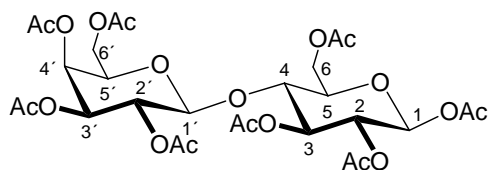
$R_f = 0.23$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  5:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, MeOD):**  $\delta = 8.34$  (dd, 2 H,  $J = 8.1, 1.6 \text{ H}_{\text{ar}}$ ),  $7.72$  (ddd, 2 H,  $J = 8.0, 1.7, 8.7 \text{ H}_{\text{ar}}$ ),  $7.64$  (d, 2 H,  $J = 8.7 \text{ H}_{\text{ar}}$ ),  $7.22$  (dd, 2 H,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ),  $5.60$ - $5.50$  (m, 2 H, 2-H, 3-H),  $4.37$  (dd, 2 H, 1''-Ha, 1''-Hb),  $4.34$  (d, 1 H, 1'-H),  $4.24$  (dd, 1 H, 1-Ha),  $4.12$  (dd, 1 H, 1-Hb),  $3.92$  (m, 2 H, 4-Ha, 4-Hb),  $3.78$  (dd, 1 H, 6'-Ha),  $3.59$  (m, 1 H, 6'-Hb),  $3.56$  (m, 1 H, 2'-H),  $3.36$  (m, 1 H, 3'-H),  $3.30$  (m, 2 H, 5''-Ha, 5''-Hb),  $3.21$  (m, 1 H, 4'-H),  $3.16$  (m, 1 H, 5'-H),  $1.87$  (s, 12 H,  $\text{NHCOCH}_3$ ),  $1.83$  (m, 2 H, 2''-Ha, 2''-Hb),  $1.58$  (m, 2 H, 4''-Ha, 4''-Hb),  $1.53$  (m, 2 H, 3''-Ha, 3''-Hb);  $J_{1',2'} = 8.5 \text{ Hz}$ ,  $J_{5',6a'} = 2.2 \text{ Hz}$ ,  $J_{6'a,6'b} = 12.0 \text{ Hz}$ .

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, MeOD):**  $\delta = 180.2$  (C=O),  $174.1$  ( $\text{NCOCH}_3$ ),  $143.6$  (N-C),  $136.1$  (N-C-CHCH),  $131.5$  (C-3),  $129.8$  (C-2),  $128.7$  ( $\text{O}=\text{C}-\text{C}-\text{CHCH}_{\text{acr}}$ ),  $123.5$  (C-C=O),  $123.1$  ( $\text{O}=\text{C}-\text{C}-\text{CH}_{\text{acr}}$ ),  $117.2$  (N-C-CH),  $101.9$  (C-1'),  $78.5$  (C-5'),  $76.6$  (C-3'),  $72.6$  (C-4'),  $72.3$  (C-5''),  $67.9$  (C-4),  $65.7$  (C-1),  $63.3$  (C-6'),  $57.7$  (C-2'),  $47.4$  (C-1''),  $30.8$  (C-4''),  $28.6$  (C-2''),  $25.0$  (C-3''),  $23.4$  ( $\text{NHCOCH}_3$ ).

$\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_8$

554.63

**Octa-*O*-acetyl- $\beta$ -D-lactose (309)**

38.25 g (112 mmol) D-Lactose und 36.69 (447 mmol) wasserfreies Natriumacetat werden in 120 mL  $\text{Ac}_2\text{O}$  unter Argon auf  $100^\circ\text{C}$  erhitzt. Nachdem die Lösung klar ist, wird für weitere 10-20 min erhitzt. Anschließend wird die Lösung auf Eis (500 mL) gegossen und der braune Niederschlag filtriert, im Vakuum getrocknet und aus EtOH umkristallisiert. 42.02 g (55%) des Produkts als farblose Kristalle werden erhalten.

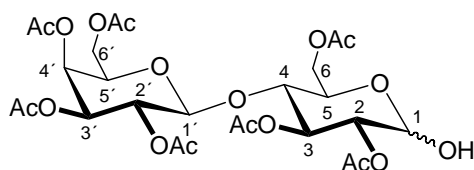
$R_f = 0.33$  (AcOEt/Cyclohexan 2:1)

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{Cl}$ , 500 MHz):**  $\delta = 5.52$  (d, 1 H, 1-H), 5.20 (dd, 1 H, 4'-H), 5.08 (dd, 1 H, 3-H), 4.96 (dd, 1 H, 2'-H), 4.88 (dd, 1 H, 3'-H), 4.80 (dd, 1 H, 2-H), 4.33 (d, 1 H, 1-H), 4.30 (m 1 H, 6-Ha), 3.95 (m, 3 H, 6-Hb, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.73 (dd, 1 H, 5'-H), 3.69 (dd, 1 H, 4-H), 3.61 (ddd, 1 H, 5-H), 2.00, 1.97, 1.94, 1.92, 1.91, 1.90, 1.89, 1.82 (s, 24 H, OAc);  $J_{1,2} = 8.3$  Hz,  $J_{2,3} = 9.2$  Hz,  $J_{3,4} = 9.2$  Hz,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.4$  Hz,  $J_{3',4'} = 3.4$  Hz,  $J_{4',5'} = 0.9$  Hz.

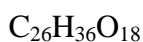
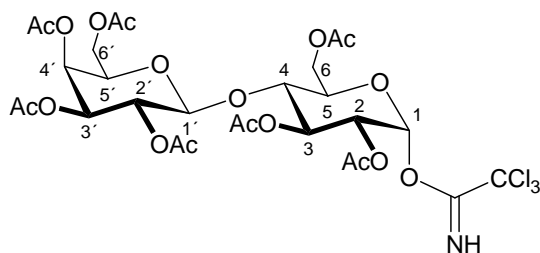
**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):**  $\delta = 170.7$ , 170.6, 170.5, 170.4, 170.0, 169.9, 169.4, 169.2 (OAc), 101.3 (C-1'), 91.1 (C-1), 76.0 (C-4), 73.9 (C-5'), 73.0 (C-5), 71.3 (C-3), 71.1 (C-3'), 70.9 (C-2), 69.4 (C-2'), 67.0 (C-4'), 62.1 (C-6), 61.1 (C-6'), 21.2-20.9 (OAc).

$\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_{19}$

678.52

**2,3,6,2',3',4',6'-Hepta-1-O-acetyl-D-lactose (310)**

Zu einer Lösung von 20 g (29.5 mmol) Octalactose **309** in 50 mL DMF werden bei 55°C 3.0 g (32.4 mmol) Hydrazinacetat zugegeben. Der Reaktionsansatz wird für 1.5 h bei 55°C gerührt, anschließend mit 200 mL AcOEt verdünnt und mit Wasser (2x100 mL) gewaschen, die organische Phase über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösemittel im Vakuum eingengt. Das Rohprodukt wird als farbloser Schaum erhalten und ohne weitere Aufreinigung direkt weiterverarbeitet.

**2,3,6,2',3',4',6'-Hepta-1-O-acetyl-α-D-lactosyl-trichloracetimidat (311)**

Zu einer Lösung von 19.7 g des Rohprodukts **310** in 250 mL trockenem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> werden bei 0°C 50 mL (50 mmol) CCl<sub>3</sub>CN und 15.2 mL (15.2 mmol) DBU zugegeben. Hierbei ändert sich die Farbe der Reaktionsmischung von hellgelb nach braunrot. Man rührt für 2 h bei 0°C. Nach Entfernen der flüchtigen Komponenten wird das erhaltene Rohprodukt über Flash-Kieselgel aufgereingt. (AcOEt/Cyclohexan 1:1). 14.6 g (63%) des Produkts werden als hellgelber Schaum erhalten.

$R_f = 0.49$  (AcOEt/Cyclohexan 2:1)

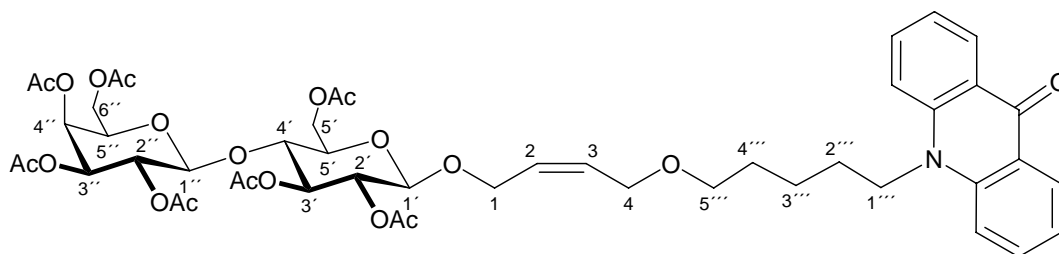
**<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>Cl, 500 MHz):**  $\delta$  = 8.68 (s, 1 H, NH), 6.50 (d, 1 H, 1-H), 5.68 (dd, 1 H, 3-H), 5.37 (d, 1 H, 4'-H), 5.13 (dd, 1 H, 2'-H), 5.08 (dd, 1 H, 2-H), 4.98 (dd, 1 H, 3'-H), 4.54 (d, 1 H, 1'-H), 4.49 (d, 1 H, 6-Ha), 4.14 (m, 4 H, 5-H, 6-Hb, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.90 (m, 2 H, 4-H, 5'-H), 2.16, 2.13, 2.08, 2.05, 2.02, 1.98 (s, 21 H, OAc);  $J_{1,2} = 3.8$  Hz,  $J_{2,3} = 9.6$  Hz,  $J_{3,4} = 9.6$  Hz,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.2$  Hz,  $J_{3',4'} = 3.0$  Hz,  $J_{4',5'} = 0.9$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):**  $\delta$  = 172.1, 172.0, 171.9, 171.8, 171.1, 170.8, 170.7 (OAc), 162.8 (CN), 103.0 (C-1'), 94.7 (C-1), 92.5 (CCl<sub>3</sub>), 77.7 (C-4), 72.9 (C-3'), 72.7 (C-5), 72.5 (C-5'), 71.7 (C-2), 71.3 (C-3), 70.9 (C-2'), 68.4 (C-4'), 63.3 (C-6), 62.5 (C-6'), 22.8-22.2 (OAc).

C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>18</sub>

780.94

**10-[5-(4-(((Z)-4-O-(Hepta-O-acetyl- $\beta$ -D-lactosyloxy)-but-2-enyloxy)-pentyl)-acridin-9-(10H)-on (312)**



**Variante I**

309 mg (0.81 mmol) 10-(5-((Z)-4-Hydroxybut-2-enyloxy)pentyl)-acridin-9-(10H)-on **299**, 246 mg (0.97 mmol, 1.2 Äq.) Hg(CN)<sub>2</sub> und 175 mg (0.49 mmol, 0.6 Äq.) HgBr<sub>2</sub> werden in 15 mL trockenem Acetonitril suspendiert und für 30 min unter Lichtausschluß gerührt. Anschließend werden 567 mg (0.81 mmol) Lactosylbromid **237**, gelöst in 4 mL Acetonitril, langsam dazugegeben und für weitere 2 h gerührt. Die Suspension wird nach vollständigem Umsatz eingedampft, der Rückstand in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> aufgenommen und mit Wasser gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösemittel im Vakuum angezogen. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt (AcOEt/Cyclohexan 2:1). 248 mg (0.26 mmol, 32%) eines mit Edukt verunreinigten Produkts werden als farbloser Schaum erhalten, welcher ohne weitere Aufreinigung direkt weiter entschützt wird.

**Variante II**

Eine Lösung von 500 mg (0.64 mmol, 4 Äq.) **310** und 56 mg (0.16 mmol, 1 Äq.) Acridonalkohol **298** in 15 mL trockenem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> wird mit Molsieb versetzt und für 1 h gerührt. Anschließend wird mit 41 mg (0.16 mmol, 1 Äq.) AgOTf versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur im Dunkeln gerührt. Nach vollständigem Umsatz des Alkohols wird mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> verdünnt und über Kieselgur filtriert. Die organische Phase wird mit Wasser (10 mL) und ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (10 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösemittel im Vakuum eingeeengt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch (AcOEt/Cyclohexan 2:1) aufgereinigt. 113 mg (73%) des Produkts werden als gelber Feststoff erhalten.

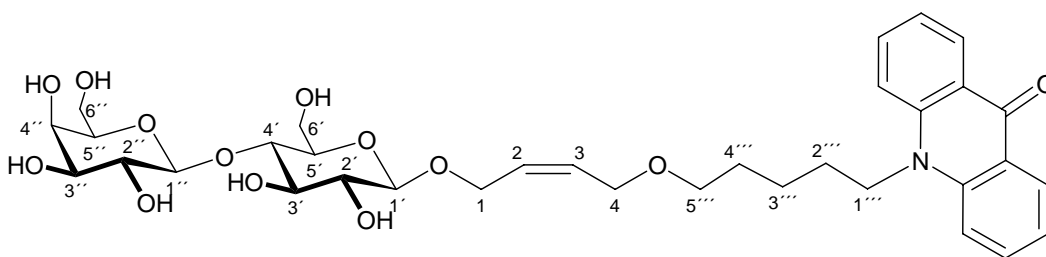
$R_f = 0.67$  (AcOEt/Cyclohexan 2:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>Cl, 500 MHz):**  $\delta$  = 8.52 (d, 2 H,  $J$  = 8.0 H<sub>ar</sub>), 7.67 (ddd, 2 H,  $J$  = 8.0, 7.0, 1.8 H<sub>ar</sub>), 7.45 (d, 2 H,  $J$  = 8.0 H<sub>ar</sub>), 7.23 (ddd, 2 H,  $J$  = 0.5, 3.2 H<sub>ar</sub>), 5.74 (m, 1 H, 3-H), 5.67 (m, 1 H, 2-H), 5.28 (d, 1 H, 4''-H), 5.17 (dd, 1 H, 3'-H), 5.05 (dd, 1 H, 2''-H), 4.89 (dd, 1 H, 3''-H), 4.81 (d, 1 H, 1'-H), 4.44 (d, 1 H, 1''-H), 4.37 (m 1 H, 6'-Ha), 4.31 (dd, 2 H, 1'''-Ha, 1'''-Hb), 4.20 (dd, 1 H, 1-Ha), 4.13-3.97 (m, 6 H, 1-Hb, 6''-Ha, 6'-Hb, 6''-Hb, 4-Ha, 4-Hb), 3.85-3.79 (m, 2 H, 5'-H, 5''-H), 3.61 (dd, 1 H, 4'-H), 3.47 (dd, 1 H, 2'-H), 3.42 (ddd, 1 H, 5'''-H), 2.07, 2.05, 2.04, 1.98, 1.97, 1.90 (s, 21 H, OAc), 1.90 (m, 2 H, 2'''-Ha, 2'''-Hb), 1.67 (m, 2 H, 4'''-Ha, 4'''-Hb), 1.58 (m, 2 H, 3'''-Ha, 3'''-Hb);  $J_{1a,1b} = 12.0$  Hz,  $J_{1a,2} = 5.9$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.8$  Hz,  $J_{2',3'} = 9.6$  Hz,  $J_{3',4'} = 9.6$  Hz,  $J_{4',5'} = 9.6$  Hz,  $J_{5',6'a} = 2.1$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12.0$  Hz,  $J_{1'',2''} = 7.9$  Hz,  $J_{2'',3''} = 10.4$  Hz,  $J_{3'',4''} = 3.4$  Hz,  $J_{4'',5''} = 1.0$  Hz.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):**  $\delta$  = 178.1 (C=O), 171.2, 170.7, 170.5, 169.5 (OAc), 142.2 (N-C), 134.3 (N-C-CHCH), 131.3 (C-3), 128.4 (C-2), 128.1 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 122.9 (C-C=O), 121.6 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 115.0 (N-C-CH), 101.5 (C-1'), 97.9 (C-1'), 76.6 (C-4'), 73.8 (C-3'), 71.6 (C-2'), 71.4 (C-3''), 71.0 (C-5'), 70.7 (C-5'''), 69.6 (C-2''), 69.0 (C-5''), 67.0 (C-4''), 66.8 (C-4), 64.1 (C-1), 62.5 (C-6'), 61.1 (C-6''), 46.5 (C-1'''), 29.9 (C-4'''), 27.4 (C-2'''), 24.2 (C-3'''), 21.5-20.9 (OAc).

C<sub>49</sub>H<sub>61</sub>NO<sub>20</sub>

984.00

**10-[5-(4-(((Z)-4-O-( $\beta$ -D-lactosyloxy)-but-2-enyloxy)-pentyl)-acridin-9-(10H)-on (313)**


Entschützung von Lactosid **312** nach **AAV 5**

**Variante I**

Ansatz: 67 mg (0.068 mmol) des Gemischs aus Lactosid **312** und Nebenprodukt

Ausbeute: 22 mg (0.032 mmol, 47%) eines leicht verunreinigten Produkts nach Chromatographie an Kieselgel ( $\text{CHCl}_3$ /Methanol 2:1). 5 mg eines sehr reinen Produkts nach zusätzlicher Aufreinigung an RP C-18-Kieselgel

**Variante II**

Ansatz: 113 mg (0.115 mmol) des Gemischs aus Lactosid **312**

Ausbeute: 73 mg (0.106 mmol, 92%) des Produkts als gelber Schaum

$R_f = 0.42$  ( $\text{CHCl}_3$ /Methanol 2:1)

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz):**  $\delta = 8.14$  (d, 2 H,  $J = 7.9$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.60 (m, 2 H,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.33 (d, 2 H,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.16 (m, 2 H,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 5.78-5.66 (m, 2 H, 2-H, 3-H), 4.42 (d, 1 H, 1''-H), 4.35 (d, 1 H, 1'-H), 4.34 (dd, 1 H, 1-Ha), 4.22 (dd, 1 H, 1-Hb), 3.96 (m, 5 H, 4-Ha, 4-Hb, 4''-H, 5'''-Ha, 5'''-Hb), 3.86 (d, 1 H, 6'-Ha), 3.82-3.73 (m, 3 H, 6'-Hb, 6''-Ha, 6''-Hb), 3.72 (m, 1 H, 5''-H), 3.67 (dd, 1 H, 3''-H), 3.62-3.55 (m, 3 H, 2'-H, 3'-H, 4'-H), 3.41 (m, 1 H, 5'-H), 3.34 (dd, 2 H, 1'''-Ha, 1'''-Hb), 1.55-1.40 (m, 4 H, 2'''-Ha, 2'''-Hb, 4'''-Ha, 4'''-Hb), 1.30 (m, 2 H, 3'''-Ha, 3'''-Hb);  $J_{1a,2} = 6.2$  Hz,  $J_{1b,2} = 6.8$  Hz,  $J_{1a,1b} = 12.4$  Hz,  $J_{1',2'} = 7.9$  Hz,  $J_{1'',2''} = 7.8$  Hz,  $J_{2'',3''} = 9.9$  Hz,  $J_{3'',4''} = 3.3$  Hz.

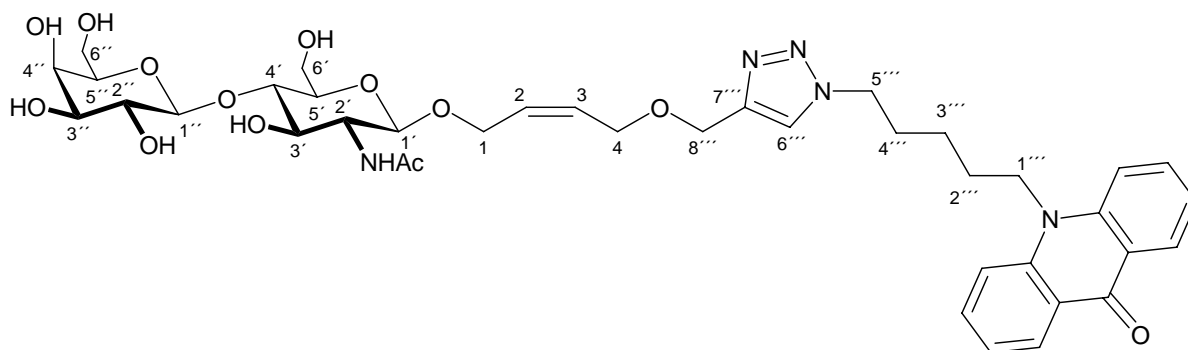
**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 125 MHz):**  $\delta = 179.4$  (C=O), 141.9 (N-C), 135.6 (N-C-CHCH), 130.7 (C-3), 129.4 (C-2), 127.3 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 122.6 (C-C=O), 121.6 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 116.3 (N-C-

CH), 103.8 (C-1''), 101.9 (C-1'), 79.2 (C-4'), 76.2 (C-5''), 75.6 (C-5'), 75.3 (C-3'), 73.6 (C-2''), 73.4 (C-3''), 71.8 (C-2'), 70.7 (C-5'''), 69.4 (C-4'), 66.4 (C-4), 65.5 (C-1), 61.9 (C-6''), 60.9 (C-6'), 45.6 (C-1'''), 29.0 (C-4'''), 27.1 (C-2'''), 23.3 (C-3''').

C<sub>35</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>13</sub>

689.75

**10-[5-(4-(((Z)-4-O-((4-O-D-Galactosyl)-2-acetamido-2-desoxy-β-D-glycosyloxy)-but-2-enyloxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-pentyl]-acridin-9-(10H)-on (314)**



**Enzymatische Galactosylierung von GlcNAc-Glycosid **301** nach AAV 11**

Ansatz: 42 mg (66 μmol) GlcNAc-Glycosid **301**, gelöst in 270 μL DMSO

UDP-Glc: 41 mg (66 μmol)

500 mU β-1,4-GalT

2 U UDP-Gal-4-epimerase

45 U CIAP

In 900 μL Puffer (30 % DMSO-Lösung)

6 d, 25 °C

Ausbeute: 24 mg (61 %) als gelber Feststoff

$R_f = 0.69$  (NH<sub>3</sub>/EtOH 1:1)

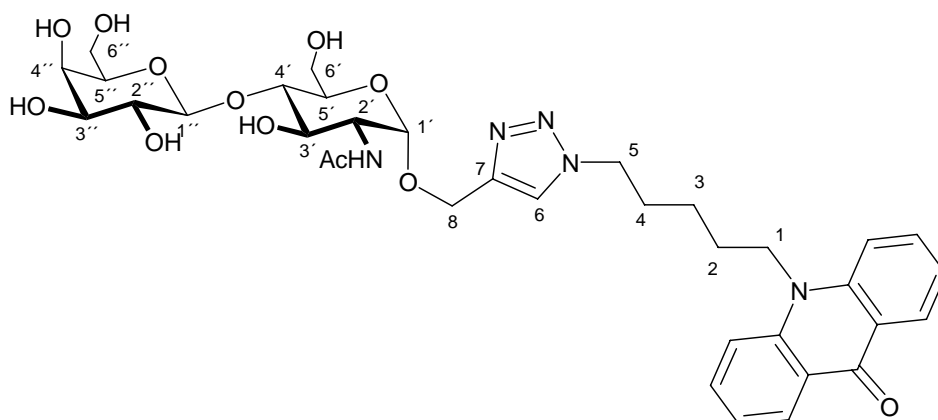
**<sup>1</sup>H-NMR (MeOD, 500 MHz):** δ = 8.32 (d, 2 H,  $J = 8.1, 1.7$  H<sub>ar.</sub>), 7.85 (s, 1 H, 6'''-H), 7.71 (ddd, 2 H,  $J = 8.1, 1.7, 8.7$  H<sub>ar.</sub>), 7.61 (d, 2 H, H<sub>ar.</sub>), 7.72 (ddd, 2 H, H<sub>ar.</sub>), 5.58 (m, 2 H, 2-H,

3-H), 5.56 (m, 1 H, 2-H), 4.46 (s, 2 H, 8-Ha''', 8-Hb'''), 4.34 (m, 5 H, 1'-H, 1'''-Ha, 1'''-Hb, 5'''-Ha, 5'''-Hb), 4.25 (d, 1 H, 1''-H), 4.22 (dd, 1 H, 1-Ha), 4.10 (dd, 1 H, 1-Hb), 4.01 (m, 2 H, 4-Ha, 4-Hb), 3.80 (dd, 1 H, 4a'-Ha), 3.75-3.68 (m, 2 H, 6'-Hb, 4''-H), 3.765-3.60 (m, 2 H, 2'-H, 6''-Ha), 3.56 (dd, 1 H, 6''-Hb), 3.52-3.40 (m, 4 H, 3'-H, 4'-H, 2''-H, 5''-H), 3.36 (dd, 1 H, 3''-H), 3.19 (ddd, 1 H, 5'-H), 1.92 (m, 2 H, 2'''-Ha, 2'''-Hb), 1.83 (s, 3 H, NHAc), 1.81 (m, 2 H, 4'''-Ha, 4'''-Hb), 1.43 (m, 2 H, 3'''-Ha, 3'''-Hb);  $J_{1'',2''} = 7.6$  Hz,  $J_{2'',3''} = 9.7$  Hz,  $J_{3'',4''} = 3.3$  Hz,  $J_{5',6'a} = 2.5$  Hz,  $J_{6a',6'b} = 12.1$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR (MeOD, 125 MHz):**  $\delta = 181.4$  (C=O), 175.1 (NHAc), 147.6 (C-7'''), 144.8 (N-C), 137.4 (N-C-CHCH), 132.2 (C-3), 131.7 (C-2), 129.9 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 126.8 (C-6'''), 124.7 (C-C=O), 124.3 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 118.4 (N-C-CH), 106.8 (C-1'), 103.1 (C-1'), 82.8 (C-4'), 78.8 (C-5'), 78.3 (C-5'), 76.5 (C-3'), 75.9 (C-3'), 74.2 (C-2'), 72.0 (C-4'), 68.6 (C-4), 67.0 (C-1), 65.7 (C-8'''), 64.2 (C-6'), 63.7 (C-6'), 58.2 (C-2'), 52.7 (C-5'), 48.4 (C-1'), 32.5 (C-4'''), 29.4 (C-2'''), 26.1 (C-3'''), 24.7 (NHAc).

$\text{C}_{37}\text{H}_{51}\text{N}_5\text{O}_{13}$  797.85

**10-[5-(4-O-((4-O-D-Galactosyl)-2-acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glycosyloxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-pentyl]-acridin-9-(10H)-on (315)**



**Enzymatische Galactosylierung von GlcNAc-Glycosid **303** nach AAV 11**

Ansatz: 40 mg (71  $\mu\text{mol}$ ) GlcNAc-Glycosid **303**, gelöst in 270  $\mu\text{L}$  DMSO



UDP-Glc: 44 mg (71  $\mu$ mol)  
500 mU  $\beta$ -1,4-GalT  
2 U UDP-Gal-4-epimerase  
45 U CIAP  
In 900  $\mu$ L Puffer (30 % DMSO-Lösung)  
6 d, 25 °C

Ausbeute: 24 mg (61 %) als gelber Feststoff

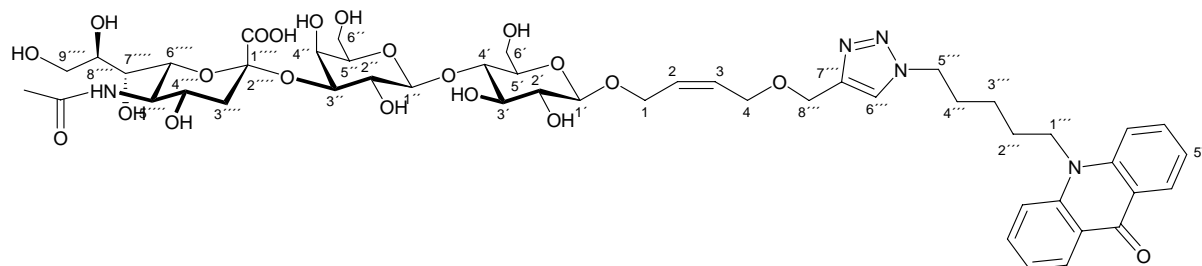
$R_f = 0.59$  ( $\text{NH}_3/\text{EtOH}$  1:1)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, MeOD):**  $\delta = 8.17$  (dd, 2 H,  $J = 8.1, 1.7$  H<sub>ar</sub>), 7.81 (s, 1 H, 6-H), 7.66 (ddd, 2 H,  $J = 8.0, 1.7, 8.7$  H<sub>ar</sub>), 7.57 (d, 2 H,  $J = 8.7$  H<sub>ar</sub>), 7.16 (ddd, 2 H, H<sub>ar</sub>), 4.74 (d, 1 H, 1'-H), 4.61 (d, 1 H, 8-Ha), 4.46 (d, 1 H, 8-Hb), 4.30 (m, 4 H, 1-Ha, 1-Hb, 5-Ha, 5-Hb), 4.20 (d, 1 H, 1''-H), 3.80 (dd, 1 H, 2'-H), 3.70 (m, 2 H, 6'-Ha, 6'-Hb), 3.65 (m, 2 H, 3'-H, 4''-H), 3.58 (m, 2 H, 5'-H, 6''-Ha), 3.52 (m, 1 H, 6''-Hb), 3.46 (dd, 1 H, 4'-H), 3.42 (m, 1 H, 5''-H), 2.37 (dd, 1 H, 2''-H), 3.32 (dd, 1 H, 3''-H), 1.86 (m 2 H, 2-Ha, 2-Hb), 1.77 (m, s, 5 H, 4-Ha, 4-Hb, COCH<sub>3</sub>), 1.39 (m, 2 H, 3-Ha, 3-Hb);  $J_{8a,8b} = 12.5$  Hz,  $J_{1',2'} = 3.6$  Hz,  $J_{2',3'} = 10.7$  Hz,  $J_{1'',2''} = 7.6$  Hz,  $J_{2'',3''} = 9.7$  Hz,  $J_{3'',4''} = 3.2$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, MeOD):**  $\delta = 180.2$  (C=O), 174.0 (NCOCH<sub>3</sub>), 146.5 (C-7), 144.5 (N-C), 137.1 (N-C-CHCH), 129.6 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 126.5 (C-6), 124.4 (C-C=O), 124.0 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 118.1 (N-C-CH), 106.5 (C-1'), 99.1 (C-1'), 82.6 (C-4'), 78.5 (C-5'), 76.2 (C-3'), 74.0 (C-5', C-2'), 72.3 (C-3'), 71.6 (C-4'), 63.8 (C-6'), 63.2 (C-6'), 62.7 (C-8), 55.2 (C-2'), 52.4 (C-1), 48.1 (C-5), 32.3 (C-2), 29.0 (C-4), 25.8 (C-3), 23.9 (COCH<sub>3</sub>).

$\text{C}_{35}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_{12}$                       727.76

**10-[5-(4-(((Z)-4-O-(3-O-(5-Acetamido-3,5-dideoxy- $\alpha$ -D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure)- $\beta$ -D-lactosyloxy)-but-2-enyloxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-pentyl] -acridin-9-(10H)-on**  
**Neu5Ac- $\alpha$ -2,3-Lactosid (316)**



**Enzymatische Sialylierung von Lactosid **306** mit CMP-Neu5Ac **289** nach AAV 12**

**Ansatz:** 22 mg (35  $\mu$ mol) CMP-Neu5Ac **289** in 2.5 mL Puffer + 5 mg (7.8  $\mu$ mol, 2 d) + 3.9 mg (6  $\mu$ mol, 6 d)  
 19.6 mg (26  $\mu$ mol) Lactosid **306** in 100  $\mu$ L DMSO  
 25  $\mu$ L (5  $\mu$ mol) 0.2 M  $\text{MnCl}_2$   
 15  $\mu$ L (15  $\mu$ mol) 1 M  $\text{NaN}_3$   
 400  $\mu$ L  $\alpha$ -2,3-SiaT + 100  $\mu$ L (2 d) + 100  $\mu$ L (6 d)  
 25 U (1  $\mu$ L) CIAP  
 8 d

**Ausbeute:** 25 mg (24  $\mu$ mol, 92 %) als gelber Feststoff nach Chromatographie über Biogel P 2 fine und Flash-Kieselgel

$R_f = 0.22$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  1:1)

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz):**  $\delta = 7.91$  (d, 2 H,  $J = 1.5, 8.1$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.72 (s, 1 H,  $6'''$ -H), 7.45 (ddd, 2 H,  $J = 1.5, 8.1$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.09 (d, 2 H,  $J = 8.9$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.01 (dd, 2 H,  $J = 7.5$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 5.60 (m, 2 H, 2-H, 3-H), 4.43 (s, 2 H, 8-Ha''', 8-Hb'''), 4.38 (d, 1 H,  $1''$ -H), 4.23 (dd, 2 H,  $5'''$ -Ha,  $5'''$ -Hb), 4.18 (d, 1 H,  $1'$ -H), 4.12 (dd, 1 H, 1-Ha), 4.02 (m, 2 H, 1-Hb,  $3''$ -H), 3.86 (d, 3 H, 4-Ha, 4-Hb,  $4''$ -H), 3.81 (m, 1 H,  $6''''$ -H), 3.80-3.72 (m, 3 H,  $6'$ -Ha,  $5''''$ -H,  $9''''$ -Ha), 3.69-3.40 (m, 13 H,  $2'$ -H,  $3'$ -H,  $4'$ -H,  $6'$ -Hb,  $3''$ -H,  $5''$ -H,  $6''$ -Ha,  $6''$ -Hb,  $1'''$ -Ha,  $1'''$ -Hb,  $4''''$ -H,  $7''''$ -H,  $8''''$ -H), 3.27 (m, 1 H,  $5'$ -H), 3.14 (dd, 1 H,  $2''$ -H), 2.68 (dd, 1 H,

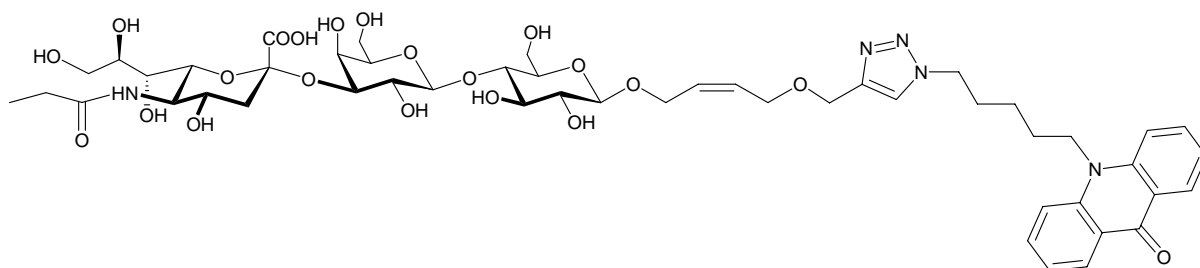
3''''-Ha), 1.94 (s, 3 H, NHAc), 1.70 (m, 1 H, 3''''-Hb), 1.60 (m, 2 H, 4''''-Ha, 4''''-Hb), 1.15 (m 2 H, 2'''-Ha, 2'''-Hb), 1.11 (m, 2 H, 3'''-Ha, 3'''-Hb);  $J_{1',2'} = 8.0$  Hz,  $J_{1'',2''} = 7.9$  Hz,  $J_{2'',3''} = 10.4$  Hz,  $J_{3''',4'''} = 4.6$  Hz,  $J_{3''',4'''} = 12.4$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz):**  $\delta = 178.7$  (C=O), 175.4 (NHAc), 174.3 (C-1'''), 144.2 (C-7'''), 141.1 (N-C), 135.1 (N-C-CHCH), 129.6, 129.4 (C-2, C-3), 126.6 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 126.1 (C-6'''), 122.1 (C-C=O), 120.8 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 115.6 (N-C-CH), 103.1 (C-1'), 101.4 (C-1'), 100.2 (C-2'''), 78.6 (C-4'), 75.9 (C-3'), 75.5 (C-8'''), 75.1 (C-5'), 74.7 (C-5'), 73.3 (C-2'), 73.0 (C-3'), 72.1 (C-6'''), 69.7 (C-2'), 68.7 (C-7'''), 68.5 (C-4'''), 67.8 (C-4'), 65.3 (C-4), 65.0 (C-1), 63.0 (C-9'''), 62.6 (C-8'''), 61.4 (C-6'), 60.3 (C-6'), 52.1 (C-5'''), 50.5 (C-5'''), 45.6 (C-1'), 40.0 (C-3'''), 29.1 (C-4'), 26.2 (C-2'), 23.0 (C-3'), 22.4 (NHAc).

$\text{C}_{48}\text{H}_{65}\text{N}_5\text{O}_{21}$  1048.05

**10-[5-(4-(((Z)-4-O-(3-O-(N-Propanoyl-5-amino-3,5-didesoxy- $\alpha$ -D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure)- $\beta$ -D-lactosyloxy)-but-2-enyloxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-pentyl]-acridin-9-(10H)-on**

**Neu5Prop- $\alpha$ -2,3-Lactosid (317)**



Enzymatische Sialylierung von Lactosid **306** mit CMP-Neu5Prop **290** nach AAV 12

Ansatz:

2 parallele Ansätze in 2.5 mL Eppendorf-Tubes mit jeweils:

11.1 mg (17  $\mu\text{mol}$ ) CMP-Neu5Ac **289** in 2 mL Puffer + 5 mg (7.7  $\mu\text{mol}$ , 2 d) + 3.9 mg 6  $\mu\text{mol}$  (6 d)

9.8 mg (13  $\mu\text{mol}$ ) Lactosid **306** in 100  $\mu\text{L}$  DMSO

25  $\mu\text{L}$  (5  $\mu\text{mol}$ ) 0.2 M  $\text{MnCl}_2$

15  $\mu\text{L}$  (15  $\mu\text{mol}$ ) 1 M  $\text{NaN}_3$   
 400  $\mu\text{L}$   $\alpha$ -2,3-SiaT + 100  $\mu\text{L}$  (2 d) + 100  $\mu\text{L}$  (6 d)  
 25 U (1  $\mu\text{L}$ ) CIAP  
 8 d

Ausbeute: 24 mg (88 %) als gelber Feststoff nach Chromatographie über Biogel P  
 2 fine und Flash-Kieselgel

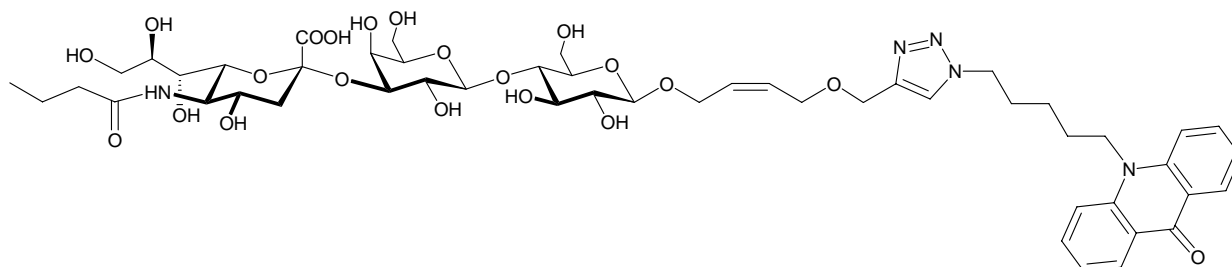
$R_f = 0.24$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  1:1)

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz):**  $\delta = 7.88$  (d, 2 H,  $J = 8.1$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.75 (s, 1 H,  $6'''$ -H), 7.38 (dd, 2 H,  $J = 8.1$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.01 (d, 2 H,  $J = 8.9$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 6.95 (dd, 2 H,  $J = 7.5$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 5.63 (m, 2 H, 2-H, 3-H), 4.46 (s, 2 H, 8-Ha''', 8-Hb'''), 4.42 (d, 1 H,  $1''$ -H), 4.22 (m, 3 H,  $1'$ -H,  $5'''$ -Ha,  $5'''$ -Hb), 4.17 (dd, 1 H, 1-Ha), 4.07 (dd, 1 H, 1-Hb), 4.03 (dd, 1 H,  $3''$ -H), 3.91 (d, 3 H, 4-Ha, 4-Hb,  $4''$ -H), 3.85 (m, 1 H,  $6''''$ -H), 3.83-3.76 (m, 3 H,  $6'$ -Ha,  $5''''$ -H,  $9''''$ -Ha), 3.72-3.45 (m, 13 H,  $2'$ -H,  $3'$ -H,  $4'$ -H,  $6'$ -Hb,  $3''$ -H,  $5''$ -H,  $6''$ -Ha,  $6''$ -Hb,  $1'''$ -Ha,  $1'''$ -Hb,  $4''''$ -H,  $7''''$ -H,  $8''''$ -H), 3.31 (m, 1 H,  $5'$ -H), 3.18 (dd, 1 H,  $2''$ -H), 2.72 (dd, 1 H,  $3''''$ -Ha), 2.24 (t, 2 H,  $11''''$ -Ha,  $11''''$ -Hb), 1.74 (dd, 1 H,  $3''''$ -Hb), 1.61 (m, 2 H,  $4'''$ -Ha,  $4'''$ -Hb), 1.15 (m, 2 H,  $2'''$ -Ha,  $2'''$ -Hb), 1.05 (t, 3 H,  $13''''$ -H), 1.04 (m, 2 H,  $3'''$ -Ha,  $3'''$ -Hb);  $J_{1',2'} = 8.0$  Hz,  $J_{1'',2''} = 7.9$  Hz,  $J_{2'',3''} = 10.4$  Hz,  $J_{3''',4'''} = 4.6$  Hz,  $J_{3''',3''',b} = 12.4$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz):**  $\delta = 178.6$  (C=O), 174.3 (C-10'''), 171.4 (C-1'''), 144.2 (C-7''), 141.1 (N-C), 135.0 (N-C-CHCH), 129.6, 129.4 (C-2, C-3), 126.6 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 125.1 (C-6''), 122.1 (C-C=O), 120.8 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 115.5 (N-C-CH), 103.2 (C-1'), 101.4 (C-1'), 100.2 (C-2'''), 78.7 (C-4'), 76.0 (C-3'), 75.5 (C-8'''), 75.1 (C-5'), 74.8 (C-5'), 73.3 (C-2'), 73.1 (C-3'), 72.2 (C-6'''), 69.8 (C-2'), 68.6 (C-4''', C-7'''), 67.9 (C-4'), 65.4 (C-4), 65.0 (C-1), 63.1 (C-9'''), 62.7 (C-8''), 61.4 (C-6'), 60.4 (C-6'), 52.0 (C-5'''), 50.5 (C-5''), 45.6 (C-1'), 40.2 (C-3'''), 29.6 (C-11'''), 29.2 (C-4'), 26.2 (C-2'), 23.0 (C-3'), 9.9 (C-12''').

$\text{C}_{49}\text{H}_{67}\text{N}_5\text{O}_{21}$  1062.08

**10-[5-(4-(((Z)-4-O-(3-O-(N-Butanoyl-5-amino-3,5-didesoxy- $\alpha$ -D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure)- $\beta$ -D-lactosyloxy)-but-2-enyloxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-pentyl]-acridin-9-(10*H*)-on**  
**Neu5But- $\alpha$ -2,3-Lactosid (318)**



**Enzymatische Sialylierung von Lactosid **306** mit CMP-Neu5But **291** nach AAV **12****

**Ansatz:** 2 parallele Ansätze in 2.5 mL Eppendorf-Tubes mit jeweils:

11.3 mg (17  $\mu$ mol) CMP-Neu5Ac **289** in 2 mL Puffer + 3.4 mg (5.1  $\mu$ mol, 2 d) + 2.6 mg (3.9  $\mu$ mol, 6 d)

9.8 mg (13  $\mu$ mol) Lactosid **306** in 100  $\mu$ L DMSO

25  $\mu$ L (5  $\mu$ mol) 0.2 M  $\text{MnCl}_2$

15  $\mu$ L (15  $\mu$ mol) 1 M  $\text{NaN}_3$

400  $\mu$ L  $\alpha$ -2,3-SiaT + 100  $\mu$ L (2 d) + 100  $\mu$ L (6 d)

25 U (1  $\mu$ L) CIAP

8 d

**Ausbeute:** 24 mg (87 %) als gelber Feststoff nach Chromatographie über Biogel P  
2 fine und Flash-Kieselgel

$R_f = 0.29$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  1:1)

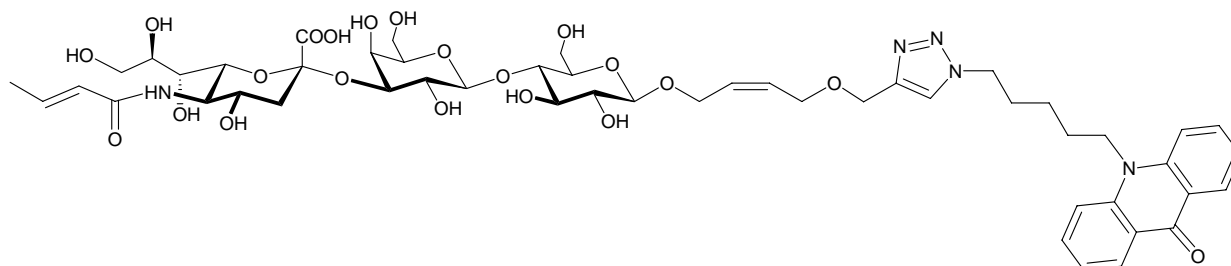
**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz):**  $\delta = 7.94$  (d, 2 H,  $J = 8.1$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.78 (s, 1 H, 6'''-H), 7.46 (dd, 2 H,  $J = 8.1$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.10 (d, 2 H,  $J = 8.9$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.03 (dd, 2 H,  $J = 7.5$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 5.64 (m, 2 H, 2-H, 3-H), 4.48 (s, 2 H, 8-Ha''', 8-Hb'''), 4.42 (d, 1 H, 1''-H), 4.25 (m, 3 H, 1'-H, 5'''-Ha, 5'''-Hb), 4.17 (dd, 1 H, 1-Ha), 4.07 (dd, 1 H, 1-Hb), 4.05 (dd, 1 H, 3''-H), 3.91 (d, 3 H, 4-Ha, 4-Hb, 4''-H), 3.85 (m, 1 H, 6''''-H), 3.84-3.76 (m, 3 H, 6'-Ha, 5''''-H, 9''''-Ha), 3.75-3.35 (m, 13 H, 2'-H, 3'-H, 4'-H, 6'-Hb, 3''-H, 5''-H, 6''-Ha, 6''-Hb, 1'''-Ha, 1'''-Hb,

4''''-H, 7''''-H, 8''''-H), 3.32 (m, 1 H, 5'-H), 3.19 (dd, 1 H, 2''-H), 2.72 (dd, 1 H, 3''''-Ha), 2.22 (t, 2 H, 11''''-Ha, 11''''-Hb), 1.75 (dd, 1 H, 3''''-Hb), 1.66 (m, 2 H, 4''-Ha, 4''-Hb), 1.56 (ddd, 2 H, 12''''-Ha, 12''''-Hb), 1.23 (m 2 H, 2'''-Ha, 2'''-Hb), 1.08 (m, 2 H, 3'''-Ha, 3'''-Hb), 0.85 (t, 3 H, 13''''-H);  $J_{1',2'} = 8.0$  Hz,  $J_{1'',2''} = 7.9$  Hz,  $J_{2',3''} = 10.4$  Hz,  $J_{3''',4'''} = 4.6$  Hz,  $J_{3''',3''b} = 12.4$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz):**  $\delta = 178.6$  (C=O), 174.3 (C-10'''), 171.5 (C-1'''), 144.2 (C-7''), 141.2 (N-C), 135.1 (N-C-CHCH), 129.6, 129.4 (C-2, C-3), 126.7 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 125.1 (C-6'''), 122.2 (C-C=O), 120.9 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 115.7 (N-C-CH), 103.2 (C-1'), 101.4 (C-1'), 100.2 (C-2'''), 78.7 (C-4'), 76.0 (C-3'), 75.6 (C-8'''), 75.2 (C-5'), 74.5 (C-5'), 73.4 (C-2'), 73.1 (C-3'), 72.2 (C-6'''), 69.8 (C-2'), 68.7 (C-7'''), 68.6 (C-4'''), 67.9 (C-4'), 65.3 (C-4), 65.0 (C-1), 63.0 (C-9'''), 62.7 (C-8'''), 61.4 (C-6'), 60.4 (C-6'), 52.1 (C-5'''), 50.5 (C-5'), 45.6 (C-1'), 40.3 (C-3'''), 38.3 (C-11'''), 29.2 (C-4'''), 26.3 (C-2'), 23.1 (C-3'), 19.4 (C-12'''), 13.3 (C-13''').

$\text{C}_{50}\text{H}_{69}\text{N}_5\text{O}_{21}$  1076.1

**10-[5-(4-(((Z)-4-O-(3-O-(N-Crotonoyl-5-amino-3,5-didesoxy- $\alpha$ -D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure)- $\beta$ -D-lactosyloxy)-but-2-enyloxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-pentyl] -acridin-9-(10H)-on**  
**Neu5Crot- $\alpha$ -2,3-Lactosid (319)**



Enzymatische Sialylierung von Lactosid **306** mit CMP-Neu5Crot **292** nach **AAV 12**

**Ansatz:** 2 parallele Ansätze in 2.5 mL Eppendorf-Tubes mit jeweils:  
 11.3 mg (17  $\mu\text{mol}$ ) CMP-Neu5Ac **289** in 2 mL Puffer + 3.3 mg (5  $\mu\text{mol}$ , 2 d) + 4.2 mg (6.3  $\mu\text{mol}$ , 6 d)

9.8 mg (13  $\mu\text{mol}$ ) Lactosid **306** in 100  $\mu\text{L}$  DMSO  
 25  $\mu\text{L}$  (5  $\mu\text{mol}$ ) 0.2 M  $\text{MnCl}_2$   
 15  $\mu\text{L}$  (15  $\mu\text{mol}$ ) 1 M  $\text{NaN}_3$   
 400  $\mu\text{L}$   $\alpha$ -2,3-SiaT + 100  $\mu\text{L}$  (2 d) + 100  $\mu\text{L}$  (6 d)  
 25 U (1  $\mu\text{L}$ ) CIAP  
 8 d

Ausbeute: 23 mg (83 %) als gelber Feststoff nach Chromatographie über Biogel P  
 2 fine und Flash-Kieselgel

$R_f = 0.29$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  1:1)

$R_f = 0.66$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

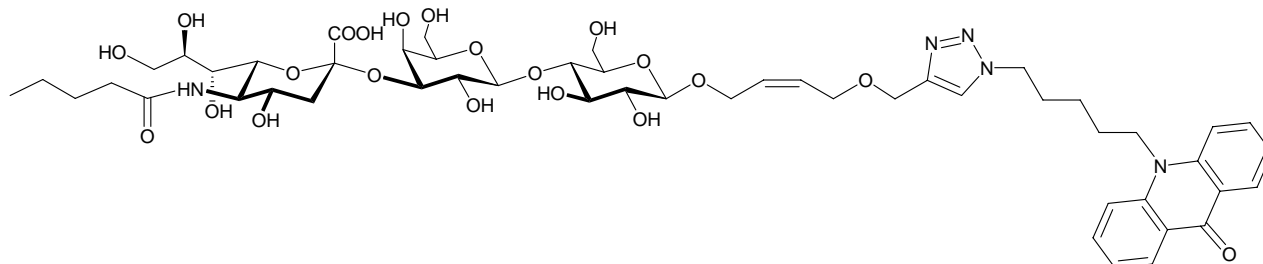
**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz):**  $\delta = 7.82$  (d, 2 H,  $J = 8.1$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 7.66 (s, 1 H,  $6'''$ -H), 7.35 (dd, 2 H,  $J = 8.1$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 6.99 (d, 2 H,  $J = 8.9$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 6.91 (dd, 2 H,  $J = 7.5$  Hz,  $\text{H}_{\text{ar}}$ ), 6.65 (dt, 1 H,  $12''''$ -H), 5.82 (dd, 1 H,  $11''''$ -H), 5.52 (m, 2 H, 2-H, 3-H), 4.37 (s, 2 H, 8-Ha'', 8-Hb''), 4.32 (d, 1 H,  $1''$ -H), 4.14 (m, 3 H,  $1'$ -H, H,  $5'''$ -Ha,  $5'''$ -Hb), 4.06 (dd, 1 H, 1-Ha), 3.95 (m, 2 H, 1-Hb,  $3''$ -H), 3.80 (d, 3 H, 4-Ha, 4-Hb,  $4''$ -H), 3.75-3.66 (m, 4 H,  $6''''$ -H,  $6'$ -Ha,  $5''''$ -H,  $9''''$ -Ha), 3.63-3.35 (m, 13 H,  $2'$ -H,  $3'$ -H,  $4'$ -H,  $6'$ -Hb,  $3''$ -H,  $5''$ -H,  $6''$ -Ha,  $6''$ -Hb,  $1'''$ -Ha,  $1'''$ -Hb,  $4''''$ -H,  $7''''$ -H,  $8''''$ -H), 3.21 (m, 1 H,  $5'$ -H), 3.06 (dd, 1 H,  $2''$ -H), 2.61 (dd, 1 H,  $3''''$ -Ha), 1.69 (m, 4 H,  $3''''$ -Hb,  $13''''$ -H), 1.55 (m, 2 H,  $4'''$ -Ha,  $4'''$ -Hb), 1.12 (m, 2 H,  $2'''$ -Ha,  $2'''$ -Hb), 0.07 (m, 2 H,  $3'''$ -Ha,  $3'''$ -Hb);  $J_{1',2'} = 8.0$  Hz,  $J_{1'',2''} = 7.9$  Hz,  $J_{2'',3''} = 10.4$  Hz,  $J_{3''',4'''} = 4.6$  Hz,  $J_{3''',a,3''b} = 12.4$  Hz.

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz):**  $\delta = 172.8$  (C=O), 169.9 (C- $10''''$ ), 168.7 (C- $1''''$ ), 142.4 (C- $7''$ ), 141.7 (C- $13''''$ ), 139.7 (N-C), 133.6 (N-C-CHCH), 128.1, 127.9 (C-2, C-3), 125.2 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 123.6 (C- $6''$ ), 122.3 (C- $12''''$ ), 120.7 (C-C=O), 119.3 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 114.1 (N-C-CH), 101.6 (C- $1''$ ), 99.9 (C- $1'$ ), 98.7 (C- $2''''$ ), 77.2 (C- $4'$ ), 74.4 (C- $3'$ ), 74.0 (C- $8''''$ ), 73.6 (C- $5'$ ), 73.3 (C- $5''$ ), 71.9 (C- $2'$ ), 71.5 (C- $3'$ ), 70.6 (C- $6''''$ ), 68.2 (C- $2''$ ), 67.1 (C- $4''''$ , C- $7''''$ ), 66.4 (C- $4''$ ), 63.8 (C-4), 63.5 (C-1), 61.5 (C- $9''''$ ), 61.1 (C- $8''$ ), 59.9 (C- $6''$ ), 58.9 (C- $6'$ ), 50.6 (C- $5''''$ ), 49.0 (C- $5''$ ), 44.1 (C- $1''$ ), 38.6 (C- $3''''$ ), 27.6 (C- $4''$ ), 24.7 (C- $2''$ ), 21.5 (C- $3''$ ), 16.1 (C- $13''''$ ).

$\text{C}_{50}\text{H}_{67}\text{N}_5\text{O}_{21}$

1074.09

**10-[5-(4-(((Z)-4-O-(3-O-(N-Pentanoyl-5-amino-3,5-didesoxy- $\alpha$ -D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure)- $\beta$ -D-lactosyloxy)-but-2-enyloxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-pentyl] -acridin-9-(10*H*)-on**  
**Neu5Pent- $\alpha$ -2,3-Lactosid (320)**



**Enzymatische Sialylierung von Lactosid **306** mit CMP-Neu5Val **293** nach AAV 12**

**Ansatz:** 2 parallele Ansätze in 2.5 mL Eppendorf-Tubes mit jeweils:  
 11.5 mg (17  $\mu$ mol) CMP-Neu5Ac **289** in 2 mL Puffer + 3.5 mg (5.2  $\mu$ mol, 2 d) + 2.9 mg (4.2  $\mu$ mol, 6 d)  
 9.8 mg (13  $\mu$ mol) Lactosid **306** in 100  $\mu$ L DMSO  
 25  $\mu$ L (5  $\mu$ mol) 0.2 M MnCl<sub>2</sub>  
 15  $\mu$ L (15  $\mu$ mol) 1 M NaN<sub>3</sub>  
 400  $\mu$ L  $\alpha$ -2,3-SiaT + 100  $\mu$ L (2 d) + 100  $\mu$ L (6 d)  
 25 U (1  $\mu$ L) CIAP  
 8 d

**Ausbeute:** 23 mg (85 %) als gelber Feststoff nach Chromatographie über Biogel P 2 fine und Flash-Kieselgel

$R_f = 0.33$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 1:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 500 MHz):**  $\delta$  = 7.85 (d, 2 H,  $J$  = 8.1 Hz, H<sub>ar.</sub>), 7.74 (s, 1 H, 6'''-H), 7.35 (dd, 2 H,  $J$  = 8.1 Hz, H<sub>ar.</sub>), 6.97 (d, 2 H,  $J$  = 8.9 Hz, H<sub>ar.</sub>), 6.92 (dd, 2 H,  $J$  = 7.5 Hz, H<sub>ar.</sub>), 5.64 (m, 2 H, 2-H, 3-H), 4.46 (s, 2 H, 8-Ha''', 8-Hb'''), 4.42 (d, 1 H, 1''-H), 4.25 (d, 1 H, 1'-H), 4.20 (m, 2 H, 5'''-Ha, 5'''-Hb), 4.10 (m, 1 H, 1-Ha), 4.05 (m, 2 H, 1-Hb, 3''-H), 3.94 (d, 2 H, 4-Ha, 4-Hb), 3.90 (d, 1 H, 4''-H), 3.84 (m, 1 H, 6''''-H), 3.80-3.72 (m, 3 H, 6'-Ha, 5''''-H, 9''''-Ha), 3.69-3.45 (m, 13 H, 2'-H, 3'-H, 4'-H, 6'-Hb, 3''-H, 5''-H, 6''-Ha, 6''-Hb, 1'''-Ha,



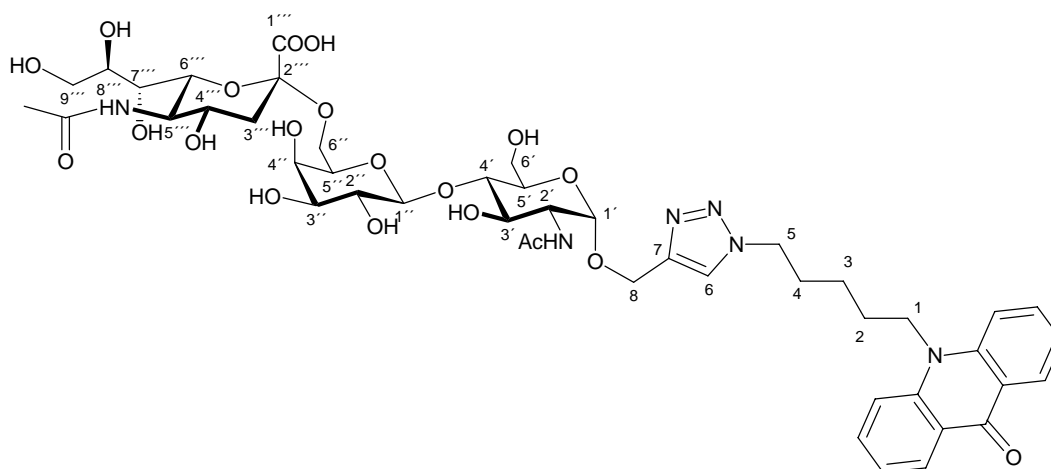
1'''-Hb, 4'''-H, 7'''-H, 8'''-H), 3.32 (m, 1 H, 5'-H), 3.19 (dd, 1 H, 2''-H), 2.72 (dd, 1 H, 3'''-Ha), 2.22 (t, 2 H, 11'''-Ha, 11'''-Hb), 1.75 (dd, 1 H, 3'''-Hb), 1.58 (m, 2 H, 4'''-Ha, 4'''-Hb), 1.49 (ddd, 2 H, 12'''-Ha, 12'''-Hb), 1.24 (q, 2 H, 13'''-Ha, 13'''-Hb), 1.12 (m, 2 H, 2'''-Ha, 2'''-Hb), 1.02 (m, 2 H, 3'''-Ha, 3'''-Hb), 0.80 (t, 3 H, 14'''-H);  $J_{1',2'} = 8.0$  Hz,  $J_{1',2''} = 7.9$  Hz,  $J_{2'',3''} = 10.4$  Hz,  $J_{3''',4'''} = 4.6$  Hz,  $J_{3''',a,3''b} = 12.4$  Hz.

**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz):**  $\delta = 178.7$  (C=O), 178.6 (C-10'''), 174.3 (C-1'''), 144.2 (C-7'''), 141.1 (N-C), 135.0 (N-C-CHCH), 129.7, 129.4 (C-2, C-3), 126.7 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 125.0 (C-6'''), 122.1 (C-C=O), 120.8 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 115.5 (N-C-CH), 103.2 (C-1'), 101.4 (C-1'), 100.2 (C-2'''), 78.7 (C-4'), 76.0 (C-3'), 75.6 (C-8'''), 75.1 (C-5'), 74.8 (C-5'), 73.4 (C-2'), 73.1 (C-3'), 72.2 (C-6'''), 69.7 (C-2''), 68.7 (C-7'''), 68.5 (C-4'''), 67.9 (C-4'), 65.4 (C-4), 65.0 (C-1), 63.0 (C-9'''), 62.7 (C-8'''), 61.4 (C-6'), 60.4 (C-6'), 52.1 (C-5'''), 50.5 (C-5'), 45.6 (C-1'), 40.0 (C-3'''), 36.0 (C-11'''), 29.2 (C-4'''), 27.9 (C-12'''), 26.2 (C-2''), 23.0 (C-3'''), 22.0 (C-13'''), 13.4 (C-14''').

C<sub>51</sub>H<sub>71</sub>N<sub>5</sub>O<sub>21</sub>

1090.13

**10-[5-(4-O-((3-O- $\alpha$ -(5-Acetamido-3,5-dideoxy- $\alpha$ -D-glycero-D-galacto-non-2-ulopyranosonsäure)-4-O-D-galactopyranosyl)-2-acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glycosyloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-pentyl]-acridin-9-(10H)-on**  
**Neu5Ac- $\alpha$ -2,6-Lactosid (321)**



Enzymatische Sialylierung von Lactosid **315** mit CMP-Neu5Ac **289** nach **AAV 12**

Ansatz: 16 mg (25  $\mu$ mol) CMP-Neu5Ac **289** in 2 mL Puffer + 3.5 mg (5.2  $\mu$ mol, 3 d)  
12 mg (16.5  $\mu$ mol) Lactosid **306** in 100  $\mu$ L DMSO  
25  $\mu$ L (5  $\mu$ mol) 0.2 M  $\text{MnCl}_2$   
15  $\mu$ L (15  $\mu$ mol) 1 M  $\text{NaN}_3$   
25 mU  $\alpha$ -2,6-SiaT  
25 U (1  $\mu$ L) CIAP  
7 d

Ausbeute: 14.5 mg (14.2  $\mu$ mol, 86 %) als gelber Feststoff nach Chromatographie über Biogel P 2 fine und RP-Kieselgel

$R_f = 0.66$  (n-Butanol/Aceton/AcOH/Wasser 35:35:7:23)

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, MeOD):**  $\delta = 8.33$  (d, 2 H,  $J = 8.1$  H<sub>ar</sub>), 7.94 (s, 1 H, 6-H), 7.79 (dd, 2 H,  $J = 8.0, 8.7$  H<sub>ar</sub>), 7.66 (d, 2 H,  $J = 8.7$  H<sub>ar</sub>), 7.31 (dd, 2 H, H<sub>ar</sub>), 4.73 (d, 1 H, 1'-H), 4.58 (m, 1 H, 8-Ha), 4.46 (d, 1 H, 8-Hb), 4.38 (m, 4 H, 1-Ha, 1-Hb, 5-Ha, 5-Hb), 4.31 (d, 1 H, 1''-H), 3.92 (m, 1 H, 9'''-Ha), 3.87 (dd, 1 H, 2'-H), 3.84-3.61 (m, 7 H, 3'-H, 6'-Ha, 6'-Hb, 4''-H, 6''-Ha, 5'''-H, 6'''-H), 3.62-3.40 (m, 10 H, 4'-H, 5'-H, 2''-H, 3''-H, 5''-H, 6''-Hb, 4'''-H, 7'''-H, 8'''-H, 9'''-Hb), 2.63 (m, 1 H, 3'''-Ha), 1.99-1.85 (m, 8 H, NHAc, 2-Ha, 2-Hb), 1.79 (m, 2 H, 4-Ha, 4-Hb), 1.63 (m, 1 H, 3'''-Hb), 1.38 (m, 2 H, 3-Ha, 3-Hb).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, MeOD):**  $\delta = 180.1$  (C=O), 175.7 (NCOCH<sub>3</sub>), 174.7 (C-1'''), 146.5 (C-7), 142.7 (N-C), 136.1 (N-C-CHCH), 127.8 (O=C-C-CHCH<sub>acr</sub>), 126.5 (C-6), 123.1 (C-C=O), 122.3 (O=C-C-CH<sub>acr</sub>), 116.8 (N-C-CH), 104.8 (C-1'), 97.2 (C-1'), 82.1 (C-4'), 77.8 (C-4'), 75.0 (C-5'), 73.9 (C-8''), 73.8 (C-6''), 72.0, 71.9 (C-5', C-3'), 70.7 (C-3'), 69.8 (C-7''), 69.5 (C-2''), 69.3 (C-4''), 64.0 (C-9''), 63.8 (C-6'), 62.9 (C-6'), 62.7 (C-8), 55.2 (C-2'), 53.3 (C-5''), 51.1 (C-1), 46.3 (C-5), 41.6 (C-3''), 30.4 (C-2), 27.4 (C-4), 20.0 (C-3), 22.9 (COCH<sub>3</sub>).

$\text{C}_{46}\text{H}_{62}\text{N}_6\text{O}_{20}$  1019.01

## VI Literaturverzeichnis

- [1] R. A. Dwek «Glycobiology: Toward Understanding the Function of Sugars» *Chem. Rev.* **1996**, 96, 683.
- [2] D. M. Gates «The flow of energy in the biosphere» *Sci. Am.* **1971**, 224, 88.
- [3] U. Siegenthaler, J. L. Sarmiento «Atmospheric carbon dioxide and the ocean» *Nature* **1993**, 365, 119.
- [4] [http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human\\_Genome/graphics/slides/01-0085jpg.shtml](http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/graphics/slides/01-0085jpg.shtml)
- [5] A. Varki «Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct» *Glycobiology* **1993**, 3, 97.
- [6] J. C. Paulsen «Glycoproteins: what are the sugar chains for» *Trends Biochem. Sci.* **1989**, 3, 272.
- [7] C.-H. Wong, R. L. Halcomb, Y. Ichikawa, T. Kajimoto «Enzyme in der organischen Synthese: das Problem der molekularen Erkennung von Kohlenhydraten (Teil 1)» *Angew. Chem.* **1995**, 107, 453.
- [8] K. M. Koeller, C.-H. Wong «Synthesis of complex carbohydrates and glycoconjugates: enzyme-based and programmable one-pot strategies» *Chem. Rev.* **2000**, 100, 4465.
- [9] I. Bucior, M. M. Burger «Carbohydrate-carbohydrate interaction as a major force initiating cell-cell recognition» *Glycoconjugate J.* **2004**, 21, 111.
- [10] S. Hakomori «Carbohydrate-to-carbohydrate interaction, through glycosynapse, as a basis of cell recognition and membrane organization» *Glycoconjugate J.* **2004**, 21, 125.
- [11] J. M. de la Fuente, S. Penadés «Understanding carbohydrate-carbohydrate interactions by means of glyconanotechnology» *Glycoconjugate J.* **2004**, 21, 149.
- [12] O. J. Plante, E. R. Palmacci, P. H. Seeberger «Automated Solid-Phase Synthesis of Oligosaccharides» *Science* **2001**, 291, 1523.
- [13] A. Bartolozzi, P. H. Seeberger «New approaches to the chemical synthesis of bioactive oligosaccharides» *Curr. Opin. Struct. Bio.* **2001**, 11, 587.
- [14] K. L. Routenberg, P. H. Seeberger «Automated Solid-Phase Synthesis of Protected Tumor-Associated Antigen and Blood Group Determinant Oligosaccharides» *Angew. Chem Int. Ed.* **2004**, 43, 602.

- [15] D. M. Ratner, E. R. Murphy, M. Jhunjhunwala, D. A. Snyder, K. F. Jensen, P. H. Seeberger «Microreactor-based reaction optimization in organic chemistry-glycosylation as a challenge» *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* **2005**, 578.
- [16] H. Nis, N. Sharon «Kohlenhydrate und Zellerkennung» *Spektrum der Wissenschaft* **1993**, 66.
- [17] T. Feizi, M. Larkin «AIDS and glycosylation» *Glycobiology* **1990**, *1*, 17.
- [18] J. Axford «Glycobiology and medicine: an introduction» *J. Roy. Soc. Med.* **1997**, *90*, 260.
- [19] V. P. Bhavanadan «Cancer-associated mucins and mucin-type glycoproteins» *Glycobiology* **1991**, *1*, 493.
- [20] M. S. Bretscher «Die Moleküle der Zellmembran» *Spektrum der Wissenschaft* **1988**, 86.
- [21] M. J. Berridge «Die Signalübertragung in der Zelle» *Spektrum der Wissenschaft* **1988**, 154.
- [22] S.-I. Hakomori, Y. Iwamori «Functional role of glycosphingolipids in cell recognition and signaling» *J. Biochem.* **1995**, *118*, 1094.
- [23] T. Yamakawa «Thus starting ganglioside research» *Trends Biochem. Sci.* **1988**, *13*, 452.
- [24] E. G. Bremer, S.-I. Hakomori, D. F. Bowen-Pope, R. Ross «Ganglioside-mediated modulation of cell growth, growth factor binding, and receptor phosphorylation» *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 6818.
- [25] E. G. Bremer, J. Schlessinger, S.-I. Hakomori «Ganglioside-mediated modulation of cell growth: specific effects of G<sub>M3</sub> tyrosine phosphorylation of the epidermal growth factor receptor» *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 2434.
- [26] N. Hanai, G. A. Nores, C. MalLeod, C.-R. Torres-Mendez, S.-I. Hakomori «Ganglioside-mediated modulation of cell growth: specific effects of G<sub>M3</sub> and lyso-G<sub>M3</sub> in tyrosine phosphorylation of the epidermal growth factor receptor» *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 10915.
- [27] F. M. Weis, R. J. Davis «Regulation of epidermal growth factor receptor signal transduction: role of gangliosides» *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 12095.
- [28] K. K.-C. Liu, S. J. Danishefsky «A striking example of the interfacing of glycal chemistry with enzymatically mediated sialylation: a concise synthesis of G<sub>M3</sub>» *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4933.

- [29] Y. Ito, J. C. Paulson «A novel strategy for the synthesis of ganglioside G<sub>M3</sub> using an enzymatically mediated produced sialoside glycosyl donor» *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 1603.
- [30] Y. Nagai, M. Iwamori «Cellular biology of gangliosides» in *Biology of the sialic acids* (Hrsg.: A. Rosenberg), Plenum Press: New York, London **1995**, 197.
- [31] S.-H. Hakomori «Role of gangliosides in transmembrane signaling and cell recognition» in *Biology of the sialic acids* (Hrsg.: A. Rosenberg), Plenum Press: New York, London **1995**, 243.
- [32] A. Rebbaa, J. Hurth, H. Yamamoto, D. S. Kersey, E. G. Bremer «Ganglioside G<sub>M3</sub> inhibition of EGF receptor mediated signal transduction» *Glycobiology* **1996**, *6*, 399.
- [33] K. K.-C. Liu, S. J. Danishefsky «A paradigm case for the merging of glycal and enzymatic assembly methods in glycoconjugate synthesis: a highly efficient chemoenzymatic synthesis of G<sub>M3</sub>» *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 1359.
- [34] S.-H. Hakomori «Glycosylation defining cancer malignancy: New wine in an old bottle» *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 10231.
- [35] C. A. Lingwood «Oligosaccharides receptors for bacteria: A view to a kill» *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 695.
- [36] Y. Hirabayashi, A. Hamaoka, M. Matsumoto, T. Matsubara, M. Tagawa, S. Wakabayashi, M. Taniguchi «Syngenetic monoclonal antibody against melanoma antigen with interspecies cross-reactivity recognizes G<sub>M3</sub>, a prominent ganglioside of B 16 melanoma» *J. Biol. Chem.* **1985**, *260*, 13328.
- [37] G. A. Nores, T. Dohi, M. Taniguchi, S.-H. Hakomori «Density-dependent recognition of cell surface G<sub>M3</sub> by a certain anti-melanoma antibody, and G<sub>M3</sub> lactone as a possible immunogen: Requirements for tumor-associated antigen and immunogen» *J. Immunol.* **1987**, *139*, 3171.
- [38] N. Kojima, M. Sadahira, K. Handa, S.H. Hakomori «Cell adhesion in a dynamic flow system as compared to static system. Glycosphingolipid-glycosphingolipid interaction in the dynamic system predominates over lectin- or integrin- or integrin-based mechanismus an adhesion of B 16 melanoma cells to non-activated endothelial cells» *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 17264.
- [39] Y. Y. Liu, T. Y. Han, A. E. Giuliano, S. Ichikawa, Y. Hirabayashi, M. C. Cabot «Glycosylation of ceramide potentiates cellular resistance to tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced» *Exp. Cell. Res.* **1999**, *252*, 464.

- [40] Y. Y. Liu, T. Y. Han, A. E. Giuliano, C. Cabot «Ceramide glycosylation potentiates cellular multidrug resistance» *FASEB* **2001**, *15*, 719.
- [41] H. Morjani, N. Aouali, R. Belhoussine, R. J. Veldman, T. Levade, M. Manfait «Evaluation of glycosylceramide in multidrug-resistant cancer cells and accumulation in cytoplasmic» *Int. J. Cancer* **2001**, *94*, 157.
- [42] S.-I. Hakomori «Cell adhesion/recognition and signal transduction through glycosphingolipid microdomain» *Glycoconjugate J.* **2000**, *17*, 143.
- [43] T. V. Kurzchalia, R. G. Parton «Membrane microdomains and caveolae» *Curr. Opin. Cell. Biol.* **1999**, *11*, 424.
- [44] W. J. Van Blitterswijk, A. H. Van der Luit, W. Caan, M. Verheij, J. Borst «Sphingolipids related to apoptosis from the point of view of membrane structure and topology» *Biochem. Soc. Trans.* **2001**, *29*, 819.
- [45] G. Van Meer, Q. Lisman «Sphingolipids transport: Rafts and translocators» *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 25855.
- [46] M. Bektas, S. Spiegel «Glycosphingolipids and cell death» *Glycoconjugate J.* **2004**, *20*, 39.
- [47] A. Giannis «Die Sialyl-Lewis-X-Gruppe und ihre Analoga als Liganden für Selektine: chemoenzymatische Synthesen und biologische Funktionen» *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 188.
- [48] L. A. Lasky «Selectins: interpreters of cell-specific carbohydrate information during inflammation» *Science* **1992**, *258*, 964.
- [49] G. J. McGarvey, C.-H. Wong «Chemical, enzymatic and structural studies in molecular glycobiology» *Liebigs Ann.* **1997**, 1059.
- [50] A. P. Corfield, R. Schauer «Isolation und purification of sialic acids» *Sialic Acids: Chemistry, Metabolism and Function* (Hrsg.: R. Schauer), Cell biology monographs Vol. 10, Springer-Verlag, Wien, New York **1982**, 51.
- [51] A. Rosenberg «Biology of the sialic acids» Plenum Press: New York, London **1995**.
- [52] G. Reuter, H. J. Gabius «Sialic Acids: Structure-analysis-metabolism, occurrence-recognition» *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **1996**, *377*, 325.
- [53] T. Angata, A. Varki «Chemical Diversity in the Sialic Acids and Related  $\alpha$ -Keto Acids: An Evolutionary Perspective» *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 439.
- [54] G. Blix, A. Gottschalk, E. Klenk «Proposed Nomenclature in the Field of Neuraminic and Sialic Acids» *Nature* **1957**, *179*, 1088.

- [55] A. Gottschalk «The chemistry and biology of sialic acids and related substances» University Press: Cambridge **1960**.
- [56] R. Schauer, H.-P. Buscher *Biochem. Biophys. Acta* **1974**, 338, 369.
- [57] M. F. Czarniecki, E. R. Thornton «Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spin-Lattice Relaxation in the *N*-Acetylneuraminic Acids. Probes for Internal Dynamics and Conformational Analysis» *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 8273.
- [58] R. Roy, C. A. Laferrière «Synthesis of protein conjugates and analogues of *N*-acetylneuraminic acid» *Can. J. Chem.* **1990**, 68, 2045.
- [59] G. Blix *Meth. Carbohydr. Chem.* **1962**, 1, 246.
- [60] A. P. Corfield, R. Schauer «Isolation und purification of sialic acids» *Sialic acids-Meth. Carbohydr. Chem.* **1962**, 1, 246.
- [61] M. P. DeNinno «The synthesis and glycosylation of *N*-acetylneuraminic acid» *Synthesis* **1991**, 583.
- [62] K. Okamoto, T. Goto «Glycosidation of sialic acids» *Tetrahedron* **1990**, 46, 5835.
- [63] U. Dabrowski, H. Friebolin, R. Brossmer, M. Supp «<sup>1</sup>H-NMR studies at *N*-acetyl-D-neuraminic acid ketosides for the determination of the anomeric configuration II» *Tetrahedron Lett.* **1979**, 20, 4637.
- [64] H. Friebolin, M. Supp, R. Brossmer, G. Keilich, D. Ziegler «<sup>1</sup>H-NMR-Untersuchungen zur Mutarotation der *N*-Acetyl-D-neuraminsäure» *Angew. Chem.* **1980**, 92, 200.
- [65] S. Inoue, K. Kitajima, Y. Inoue «Identification of 2-Keto-3-deoxy-D-glycero-D-galactononic acid (KDN, Deaminoneuraminic Acid) Residues in Mammalian Tissues and Human Lung Carcinoma Cells. Chemical Evidence of the occurrence of KDN Glycoconjugates in Mammals» *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 24341.
- [66] T. Terada, S. Kitazume, K. Kitajima, S. Inoue, F. Ito, F. A. Troy, Y. Inoue «Synthesis of CMP-deaminoneuraminic acid (CMP-KDN) using the CTP: CMP-3-deoxynonulosonate cytidyltransferase from rainbow trout testis. Identification and characterization of a CMP-KDN synthetase» *J. Biol. Chem.* **1993**, 268, 2640.
- [67] T. Angata, S. Kitazume, T. Terada, K. Kitajima, S. Inoue, F. A. Troy, Y. Inoue «Identification, characterization, and development expression of a novel  $\alpha 2 \rightarrow 8$ -KDN-transferase which terminates elongation of  $\alpha 2 \rightarrow 8$ -linked oligo-polysialic acid chain synthesis in trout egg polysialoglycoproteins» *Glycoconjugate J.* **1994**, 11, 493.
- [68] T. Angata, D. Nakada, T. Matsuda, K. Kitajima, F. A. Troy «Biosynthesis of KDN (2-Keto-3-deoxy-D-glycero-D-galacto-nononic acid). Identification and characterization

- of an KDN-9-Phosphate synthetase activity from trout testis» *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 22949.
- [69] T. Kawano, S. Koyama, H. Takematsu, Y. Kozutsumi, H. Kawasaki, S. Kawashima, T. Kawasaki, A. Suzuki «Molecular Cloning of Cytidine Monophospho-*N*-acetylneuraminic Acid Hydroxylase» *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 16458.
- [70] A. E. Manzi, E. R. Sjöberg, S. Diaz, A. Varki «Biosynthesis and turnover of *O*-acetyl and *N*-acetyl groups in the gangliosides of human melanoma cells» *J. Biol. Chem.* **1990**, 265, 13091.
- [71] A. K. Shukla, C. Schroder, U. Nohle, R. Schauer «Natural occurrence and preparation of *O*-acylated 2,3-unsaturated sialic acids» *Carbohydr. Res.* **1987**, 168, 199.
- [72] E. Luneberg, N. Zetzmann, D. Alber, Y. A. Knirel, O. Kooistra, U. Zahringer, M. Frosch *Int. J. Med. Microbiol.* **2000**, 290, 37.
- [73] F. Ahmad, P. McPhie «The intrinsic viscosity of glycoproteins» *Int. J. Biochem.* **1980**, 11, 91.
- [74] R. W. Jeanloz, J. F. Codington in *Biological Roles of Sialic Acids* (Hrsg.: A. Rosenberg, C. L. Schengrund), Plenum Press: New York **1976**, 201.
- [75] R. Schauer «Chemistry, Metabolism, and Biological Functions of Sialic Acids» *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1982**, 40, 13.
- [76] G. Herrler, J. Hausmann, H.-D. Klenk «Sialic Acid as Receptor Determinant of Ortho- and Paramyxoviruses» in *Biology of the sialic acids* (Hrsg.: A. Rosenberg), Plenum Press: New York, London **1995**, 315.
- [77] R. Schauer «Sialic acids and their role as biological masks» *TIBS* **1985**, 10, 357.
- [78] J. M. Jancik, R. Schauer, H.-J. Streicher «Influence of Membrane-Bound *N*-Acetylneuraminic Acid on the Survival of Erythrocytes in Man» *Z. Physiol. Chem.* **1975**, 356, 1329.
- [79] M. D. Chapell, R. L. Halcomb «Enzyme-Catalyzed Synthesis of Oligosaccharides That Contain Functionalized Sialic Acids» *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 3393.
- [80] G. J. Boones, A. V. Demchenko «Recent Advances in *O*-Sialylation» *Chem. Rev.* **2000**, 100, 4539.
- [81] M. J. Kiefel, M. von Itzstein «Recent Advances in the Synthesis of Sialic Derivatives and Sialymimetics as Biological Probes» *Chem. Rev.* **2002**, 102, 471.
- [82] K. M. Koeller, C.-H. Wong «Enzymes for chemical synthesis» *Nature* **2001**, 409, 232.



- [83] H. J. Gross, R. Brossmer «Enzymatic introduction of a fluorescent sialic acid into oligosaccharide chains of glycoproteins» *Eur. J. Biochem.* **1988**, *177*, 583.
- [84] H. H. Higa, J. C. Paulson, J. Weinstein «Sialylation of glycoprotein oligosaccharides with *N*-acetyl-, *N*-glycolyl-, and *N*-*O*-diacetylneuraminic acids» *J. Biol. Chem.* **1985**, *260*, 8838.
- [85] Y. Kajihara, T. Ebata, K. Koseki, H. Kodama, H. Matsushita, H. Hashimoto «Efficient Chemical Synthesis of CMP-Neu5Ac and CMP-(Neu5Ac $\alpha$ 2 $\rightarrow$ 8Neu5Ac)» *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5732.
- [86] S. J. Danishefsky, J. R. Allen «From the Laboratory to the Clinic: A Retrospective on Fully Synthetic Carbohydrate-Based Anticancer Vaccines» *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 836.
- [87] S. J. Danishefsky, J. R. Allen «Vom Labor zur Klinik: vollsynthetische Antitumor-Impfstoffe auf Kohlenhydratbasis» *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 882.
- [88] K. Ogamoto, T. Goto «Glycosidation of Sialic Acid» *Tetrahedron* **1990**, *46*, 5835.
- [89] A. V. Demchenko, G. J. Boones «A Stereoselective Approach for the Synthesis of  $\alpha$ -Sialosides» *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 5490.
- [90] V. Martichonok, G. M. Whitesides «Stereoselective  $\alpha$ -Sialylation with Sialyl Xanthate and Phenylsulfenyl Triflate as a Promotor» *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 1702.
- [91] H. Kondo, Y. Ichikawa, C.-H. Wong « $\beta$ -Sialyl phosphite and phosphoramidite: synthesis and application to the chemoenzymic synthesis of CMP-sialic acid and sialyl oligosaccharides» *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8748.
- [92] M. Izumi, C.-H. Wong «Microbial Sialyltransferases for Carbohydrate Synthesis» *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **2001**, *13*, 345.
- [93] J. Thiem, W. Treder «Synthesis of the Trisaccharide Neu-5-Ac- $\alpha$ (2 $\rightarrow$ 6)Gal- $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)GlcNAc by the Use of Immobilized Enzymes» *Angew. Chem. Int. Ed.* **1986**, *25*, 1096.
- [94] J. Thiem, W. Treder «Synthese des Trisaccharids Neu-5-Ac- $\alpha$ (2 $\rightarrow$ 6)Gal- $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)GlcNAc mit immobilisierten Enzymen» *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 1100.
- [95] D. H. Joziase, W. E. Schiphorst, D. H. Van den Eijden, J. A. Van Kuik, H. Van Halbeek, J. F. Vliegthart «Branch Specificity of Bovine Colostrum CMP-sialic acid: Gal $\beta$ 1-4GlcNAc-R  $\alpha$ -2,6-Sialyltransferase» *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 2025.
- [96] C. Unverzagt, S. Kelm, J. C. Paulson «Chemical and enzymatic synthesis of multivalent sialoglycopeptides» *Carbohydr. Res.* **1994**, *251*, 285.

- [97] M. Gilbert, A.-M. Cunningham, D. C. Watson, A. Martin, J. C. Richards, W. W. Wakarchuk <<Characterization of a recombinant *Neisseria meningitidis*  $\alpha$ -2,3-sialyltransferase and its acceptor specificity>> *Eur. J. Biochem.* **1997**, 249, 187.
- [98] O. Blixt, K. Allin, L. Pereira, A. Datta, J. C. Paulson <<Efficient Chemoenzymatic Synthesis of O-Linked Sialyl Oligosaccharides>> *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 5739.
- [99] C.-H. Wong, R. L. Halcomb, Y. Ichikawa, T. Kajimoto <<Enzymes in Organic Synthesis: Application to the Problems of Carbohydrate Recognition (Part 2)>> *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, 34, 521.
- [100] C.-H. Wong, R. L. Halcomb, Y. Ichikawa, T. Kajimoto <<Enzyme in der organischen Synthese: das Problem der molekularen Erkennung von Kohlenhydraten (Teil 2) >> *Angew. Chem.* **1995**, 107, 569.
- [101] Y. Kajihara, T. Yamamoto, N. Nagae, M. Nakashizuka, T. Sakakibara, I. Terada <<A Novel  $\alpha$ -2,6-Sialyltransferase: Transfer of Sialic Acid to Fucosyl and Sialyl Trisaccharides>> *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 8632.
- [102] W.-D. Fessner, C. Walter <<Enzymatic C-C Bond Formation in Asymmetric Synthesis>> *Top. Curr. Chem.* **1996**, 184, 98.
- [103] D. G. Comb, S. Roseman <<The sialic acids>> *J. Biol. Chem.* **1960**, 235, 2529.
- [104] R. S. Blacklow, L. Warren <<The biosynthesis of sialic acid by *Neisseria meningitidis*>> *J. Biol. Chem.* **1962**, 237, 3520.
- [105] C. Gonzales-Clemente, J. M. Luengo, L. B. Rodriguez-Aparicio, M. A. Ferrero, A. Reglero <<High production of polysialic acid [Neu5Ac $\alpha$ (2-8)-Neu5Ac $\alpha$ (2-9)]<sub>n</sub> by *Escherichia coli* K92 grown in a chemically defined medium>> *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **1990**, 371, 1101.
- [106] C.-H. Wong, G. M. Whitesides in <<Enzymes in Organic Chemistry>> *Tetrahedron Organic Chemistry Series*, J. E. Baldwin, P. D. Magnus, Eds.: Elsevier: Oxford **1994**, Vol 12.
- [107] W. Fitz, J.-R. Schwark, C.-H. Wong <<Aldotetroses and C(3)-Modified Aldohehexoses as Substrates for N-Acetylneuraminic Acid Aldolase: A Model for the Explanation of the Normal and the Inversed Stereoselectivity>> *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 3663.
- [108] M.-J. Kim, W. J. Henne, H. M. Sweers, C.-H. Wong <<Enzymes in Carbohydrate Synthesis: N-Acetylneuraminic Acid Aldolase Catalyzed Reactions and Preparation of N-Acetyl-2-deoxy-D-neuraminic Acid Derivatives>> *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 6486.

- [109] J. L.-C. Liu, G.-J. Shen, Y. Ichikawa, J. F. Rutan, G. Zapata, W. F. Vann, C.-H. Wong «Overproduction of CMP-Sialic Acid Synthetase for Organic Synthesis» *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3901.
- [110] C.-H. Lin, T. Sugai, R. L. Halcomb, Y. Ichikawa, C.-H. Wong «Unusual Stereoselectivity in Sialic Acid Aldolase-Catalyzed Aldol Condensation: Synthesis of Both Enantiomers of High-carbon Monosaccharides» *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10138.
- [111] M. Knorst «Neue Enzyme zur Synthese von sialinsäurehaltigen Oligosacchariden» *Dissertation RWTH Aachen* **1999**.
- [112] C. L. Jacobs, S. Goon, K. J. Yarema, S. Hinderlich, H. C. Hang, D. H. Chai, C. R. Bertozzi «Substrate Specificity of the Sialic Acid Biosynthetic Pathway» *Biochemistry* **2001**, *40*, 12864.
- [113] M. P. Deninno, S. J. Danishefsky «Stereoselective reactions of alkenylpyranosides: the effect of double bond geometry on conformation» *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 3925.
- [114] T. H. Chan, M. C. Lee «Indium-Mediated Coupling of  $\alpha$ -(Bromomethyl)acrylic Acid with Carbonyl Compounds in Aqueous Media. Concise Syntheses of (+)-3-Deoxy-D-glycero-D-galacto-nonulosonic Acid and N-Acetylneuraminic Acid» *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4228.
- [115] M. Banwell, C. DeSavi, K. Watson «First total synthesis of (+)-3-deoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulosonic acid (KDN) from a non-carbohydrate source» *Chem. Commun.* **1998**, 1189.
- [116] H. Tsukamoto, T. Takahashi «New Route to 3-Deoxy-2-Ulosonic Acids; Total Synthesis of KDO and KDN» *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6415.
- [117] M. D. Chappell, R. L. Halcomb «Synthesis of a Six-Carbon Sialic Acid Using an Indium-Mediated Coupling» *Org. Lett.* **2000**, 2003.
- [118] M. Warwel «Untersuchungen zur chemo-enzymatischen Synthese von Sialokonjugaten» *Dissertation TU Darmstadt* **2001**.
- [119] A. Dondoni, A. Marra, A. Boscarato «Stereoselective Conjugate Addition of Nitrogen and Carbon Nucleophiles to Sugar-Derived Enones: Synthesis of Sialic Acid Analogues» *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 3562.
- [120] A. Dondoni, A. Marra, A. P. Merino «Installation of the Pyruvate Unit in Glycidic Aldehydes via a Wittig Olefination-Michael Addition Sequence Utilizing a Thiazol-Armed Carbonyl Ylid. A New Stereoselective Route to 3-Deoxy-2-Ulosonic Acids

- and the Total Synthesis of DHA, KDN and 4-*epi*-KDN» *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3324.
- [121] X. L. Li, H. Ohtake, H. Takanashi «A facile synthesis of 1'-C-alkyl- $\alpha$ -disaccharides from 1-C-alkyl-hexopyranoses and methyl 1-C-methyl-hexopyranosides» *Tetrahedron* **2001**, *57*, 4297.
- [122] S. D. Burke, G. M. Sametz «Total Synthesis of 3-Deoxy-D-*manno*-2-octulosonic Acid (KDO) and 2-Deoxy- $\beta$ -KDO» *Org. Lett.* **1999**, *1*, 71.
- [123] S. D. Burke, E. A. Voight «Formal Synthesis of (+)-3-Deoxy-D- *glycero*-D-*galacto*-2-nonulosonic Acid (KDN) via Desymmetrization by Ring-Closing Metathesis» *Org. Lett.* **2001**, *3*, 237.
- [124] H. Mack, R. Brossmer «Synthese von 6-Thiosialinsäuren» *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4521.
- [125] G. B. Kok, M. Cambell, B. Mackey, M. von Itzstein «Synthesis and biological evaluation of sulfuryl isosters of the potent influenza virus sialidase inhibitors 4-amino-4-deoxy 4-guanidino-4-deoxy Neu5Ac2en» *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1996**, 2811.
- [126] S. Ogawa, M. Yoshikawa, T. J. Taki «Synthesis of Carbocyclic Analogue of *N*-Acetylneuraminic Acid (Pseudo-*N*-acetylneuraminic acid)» *Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 406.
- [127] M. J. Kiefel, M. von Itzstein «Influenza virus sialidase: a target for drug discovery» *Prog. Med. Chem.* **1999**, *36*, 1.
- [128] M. von Itzstein, W.-Y. Wu, G. B. Kok, M. S. Pegg, J. C. Dyason, B. Jin, T. V. Phan, M. L. Smythe, H. F. White, S. W. Oliver, P. M. Colman, J. N. Varghese, D. M. Ryan, J. M. Woods, R. C. Bethell, V. J. Hotham, J. M. Cameron, C. R. Penn «Rational design of potent sialidase-based inhibitors of influenza virus replication» *Nature* **1993**, *363*, 418.
- [129] D. M. Flemming *Expert Opin. Pharmacol.* **2003**, *4*, 799.
- [130] K.-G. Liu, S. Yan, Y.-L. Wu, Z.-J. Yao «Synthesis of 4-Azido-4-deoxy-Neu5,7,8,9Ac<sub>4</sub>2en1Me. A Key Intermediate for the Synthesis of GG167 from D-Glucono- $\delta$ -lactone» *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2269.
- [131] K. McClellan, C. M. Perry *Drug* **2001**, *61*, 263.
- [132] C. U. Kim, W. Lew, M. A. Williams, H. Liu, L. Zhang, S. Swaminathan, N. Bischofberger, M. S. Chen, D. B. Mendel, C. Y. Tai, W. G. Laver, R. C. Stevens «Influenza Neuraminidase Inhibitors Possessing a Novel Hydrophobic Interaction in

- the Enzyme Active Site: Design, Synthesis, and Structural Analysis of Carbocyclic Sialic Acid Analogues with Potent Anti-Influenza Activity» *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 681.
- [133] C. U. Kim, W. Lew, M. A. Williams, H. Wu, L. Zhang, X. Chen, P. A. Escarpe, D. B. Mendel, W. G. Laver, R. C. Stevens «Structure-Activity Relationship of Novel Carbocyclic Influenza Neuraminidase Inhibitors» *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 2451.
- [134] J. S. Oxford, R. Lambkin «Targeting influenza virus neuraminidase – a new strategy for antiviral therapy» *Drug Discovery Today* **1998**, *3*, 448.
- [135] L.-S. Li, Y.-L. Wu *Curr. Org. Chem.* **2003**, *7*, 447.
- [136] L.-S. Li, Y.-L. Wu «Synthesis of 3-deoxy-2-ulosonic acid KDO and 4-epi-KDN, a highly efficient approach of 3-C homologation by propargylation and oxidation» *Tetrahedron* **2002**, *58*, 9049.
- [137] R. Halcomb, M. D. Chappell «Recent developments in technology for glycosylation with sialic acid» *J. Carbohydr. Chem.* **2002**, *21*, 723.
- [138] D. K. Ress, J. Lindhardt «Sialic Acid Donors: Chemical Synthesis and Glycosylation» *Curr. Org. Synth.* **2004**, *1*, 31.
- [139] G. M. Watt, P. A. P. Lowden, S. L. Flitsch «Enzyme-catalyzed formation of glycosidic linkages» *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1997**, *7*, 652.
- [140] L. F. Leloir «Two Decades of Research on the Biosynthesis of Saccharides» *Science* **1971**, *172*, 1299.
- [141] R. Kornfeld, S. Kornfeld «Assembly of Asparagine Linked Oligosaccharides» *Ann. Rev. Biochem.* **1985**, *54*, 631.
- [142] J. E. Sadler, T. A. Beyer, C. L. Oppenheimer, J. C. Paulson, J.-P. Prieels, J. I. Rearick, R. L. Hill *Method. Enzymol.* **1982**, *83*, 458.
- [143] V. Ginsburg «Sugar nucleotides and the synthesis of carbohydrates» *Adv. Enzymol.* **1964**, *26*, 35.
- [144] V. Ginsburg *Method, Enzymol.* Vol. 8 **1966**, Vol. 138 **1987**, Vol. 179 **1989**.
- [145] M. Knorst, W.-D. Fessner «CMP-Sialate Synthetase from *Neisseria meningitidis*-Overexpression and Application to the Synthesis of Oligosaccharides Containing Modified Sialic Acid» *Adv. Synth. Catal.* **2001**, *343*, 698.
- [146] H. Yu, H. Yu, R. Karpel, X. Chen «Chemoenzymatic synthesis of CMP-sialic acid derivatives by a one-pot two enzyme system: comparison of substrate flexibility of three microbial CMP-sialic acid synthetases» *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 6427.

- [147] H. Yu, H. Chokhalawa, R. Karpel, H. Yu, B. Wu, J. Zhang, Y. Zhang, Q. Jia, X. Chen «A Multifunctional *Pasteurella multocida* Sialyltransferase: A Powerful Tool for the Synthesis of Sialoside Libraries» *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17618.
- [148] H. Yu, S. Huang, H. Chokhalawa, M. Sun, H. Zheng, X. Chen «Highly Efficient Chemoenzymatic Synthesis of Naturally Occuring and Non-Natural  $\alpha$ -2,6-Linked Sialosides: A *P. damsela*  $\alpha$ -2,6-Sialyltransferase with Extremely Flexible Donor-Substrate Specifity» *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3938.
- [149] A. Porzelle «Entwicklung einer reversiblen Festphasensynthese» *Dissertation TU Darmstadt* **2003**.
- [150] A. Porzelle, W.-D. Fessner «Reversible Substrate Anchoring: NC-SPOS as a Sustainable Approach to Solid-Supported Organic Synthesis» *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 4802.
- [151] W. Blokzijl, J. B. F. N. Engberts «Hydrophobic Effects. Opinions and Facts» *Angew. Chem.* **1993**, *32*, 1545.
- [152] E. Frankland «Über die Isolierung der organischen Radikale» *Ann.* **1849**, *71*, 171.
- [153] S. Reformatsky «Neue Synthese zweiatomiger einbasischer Säuren aus den Ketonen» *Ber.* **1887**, *20*, 1210.
- [154] P. Barbier *Compt. Rend.* **1899**, *128*, 110.
- [155] V. Grignard *Compt. Rend.* **1890**, *130*, 1322.
- [156] H. Gilman «Organic chemistry, an advanced treatise» Publisher: New York: Chapman & Hall, **1949**.
- [157] Y. Yamamoto, N. Asao «Selective Reactions Using Allylic Metals» *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 2207.
- [158] Z. N. Parnes, G. I. Bolestova «Reactions Proceeding with the Cleavage of Silicon-Carbon Bonds in Tetraorganosilanes» *Synthesis* **1984**, 997.
- [159] A. Hafner, R. O. Duthaler, R. Marti, G. Rihs, P. Rothe-Streit, F. Schwarzenbach «Enantioselective Allyltitanation of Aldehydes with Cyclopentadienyldialkoxy-allyltitanium Complexes» *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 2321.
- [160] A. Pelter, K. Smith, H. C. Brown «Borane Reagents» Academic Press: New York **1988**, 310.
- [161] W. Peters *Ber.* **1905**, *38*, 2567.
- [162] K. Sisido, Y. Takeda, Z. Kinugawa «Direct Synthesis of Organotin Compounds. I. Di- and Tribenzyltin Chlorides» *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 538.

- [163] J. Nosek «Modification of the Frankland reaction. II. The reaction of activated zinc with alkyl (aralkyl) halides» *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1964**, 29, 597.
- [164] T. Killinger, N. A. Boughton, T. A. Runge, J. Wollinsky «Alcohols as Solvent for the Generation and Reaction of Allylic Zinc Halides with Aldehydes and Ketones» *J. Organomet. Chem.* **1977**, 124, 131.
- [165] J. Nokami, J. Otera, T. Sudo, R. Okawara «Allylation of Aldehydes and Ketones in the Presence of Water by Allylic Bromides, Metallic Tin and Aluminium» *Organometallics* **1983**, 2, 191.
- [166] C. Petrier, J. L. Luche «Allylzinc Reagent Additions in Aqueous Media» *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 910.
- [167] C. Petrier, J. Einhorn, J. L. Luche «Selective Tin and Zinc Mediated Allylation of Carbonyl Compounds in Aqueous Media» *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 1449.
- [168] S. R. Wilson, M. E. Guazzaroni «Synthesis of Homoallylic Alcohols in Aqueous Media» *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 3087.
- [169] C. Einhorn, J. L. Luche «Selective Allylation of Carbonyl Compounds in Aqueous Media» *J. Organomet. Chem.* **1987**, 332, 117.
- [170] S. Araki, H. Ito «Indium in Organic Synthesis: Indium-Mediated Allylations of Carbonyl Compounds» *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 1831.
- [171] P. Cintas «Synthetic Organoindium Chemistry: What Makes Indium so Appealing?» *Synlett* **1995**, 1087.
- [172] T. H. Chan, C. -J. Li, M. C. Lee, Z. Y. Wei «Organometallic-Type Reactions in Aqueous Media – a New Challenge in Organic Synthesis» *Can. J. Chem.* **1994**, 72, 1181.
- [173] C.-J. Li «Aqueous Barbier-Grignard Type Reaction: Scope, Mechanism, and Synthetic Application» *Tetrahedron* **1996**, 52, 5643.
- [174] C.-J. Li, T. H. Chan «Organic Reactions in Aqueous Media» Wiley-Interscience: New York, **1997**.
- [175] J. A. Marshall «The use of indium in organic synthesis» *Chemtracts Org. Chem.* **1997**, 10, 481.
- [176] A. S. Hashimi «Indium Metal: A Reagent for C-C Bond Formation by Organometallic Reactions in Aqueous Medium» *J. Prakt. Chem.* **1998**, 340, 84.
- [177] L. A. Paquette in «Green Chemistry. Frontiers in Benign Chemical Synthesis and Processes» P.T. Anastas, T. C. Williamson Eds.; Oxford University Press: Oxford **1998**, 250.

- [178] A. Lubineau, J. Augé, Y. Queneau «Organic Synthesis in Water» P. A. Grieco Ed.; Blackie Academic: London **1998**, 102.
- [179] D. Lainé «Indium» *Synlett* **1999**, 1331.
- [180] K. K. Chauhan, C. G. Frost «Advances in Indium-Catalysed Organic Synthesis» *J. Chem.Soc. Perkin Trans.1* **2000**, 3015.
- [181] B. C. Ranu «Indium Metal and its Halides in Organic Synthesis» *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2347.
- [182] T. C. Maier, J. Podlech «Indium in Organic Synthesis» *Synthesis* **2003**, 5, 633.
- [183] V. Nair, S. Ros, C. N. Jahan, B. S. Pillai «Indium and Gallium-mediated Carbon-Carbon Bond-Forming Reactions in Organic Synthesis» *Tetrahedron* **2004**, 60, 1959.
- [184] C. J. Li, T. H. Chan. «Organometallic Reactions in Aqueous Media with Indium» *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 7017.
- [185] A. J. Bard, R. Parsons, J. Jordan, M. Dekker «Standart Potentials in Aqueous Solution» New York **1985**.
- [186] W. Schmid, G. M. Whitesides «Carbon-Carbon Bond Formation in Aqueous Ethanol: Diastereoselective Transformation of Unprotected Carbohydrates to Higher Carbon Sugars Using Allyl Bromide and Tin Metall » *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 6674.
- [187] E. Kim, D. M. Gordon, W. Schmid, G. M. Whitesides «Tin- and Indium-Mediated Allylation in Aqueous Media: Application to Unprotected Carbohydrates» *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 5500.
- [188] C. J. Li, T. H. Chan «Organic Synthesis Using Indium-Mediated and Catalyzed Reactions in Aqueous Media» *Tetrahedron* **1999**, 55, 11149.
- [189] C. Einhorn, J. Einhorn, J. L. Luche «Sonochemistry: The Use of Ultrasonic Waves in Synthetic Organic Chemistry» *Synthesis* **1989**, 787.
- [190] J. D. Sprich, G. S. Lewandos «Sonochemical Removal of Adsorbed Water and Alcohols from Magnesium Surfaces» *Inorg. Chim. Acta* **1983**, 76, 241.
- [191] T. J. Mason, J. P. Lorimer «Sonochemistry: Theory, Application and Uses of Ultrasound in Chemistry» Ellis Horwood: Chichester **1988**, 74.
- [192] H. Miyabe, T. Naito «The Utility of Indium in Aqueous Medium Radical Reactions» *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 1267.
- [193] C. Walter «Chemische und enzymatische C-C-Verknüpfungsreaktionen im wässrigen Medium» *Dissertation*, RWTH Aachen **1996**.
- [194] T. H. Chan, M. C. Lee «Indium-Mediated Coupling of  $\alpha$ -(Bromomethyl)acrylic Acid with Carbonyl Compounds in Aqueous Media. Concise Synthesis of (+)-3-Deoxy-D-



- glycero*-D-*galacto*-nonulosonic Acid and *N*-acetylneuraminic Acid» *Org. Biomol. Chem.* **1995**, 60, 4228.
- [195] T. H. Chan, M. C. Lee «A Concise Chemical Synthesis of (+)-3-Deoxy-D-*glycero*-D-*galacto*-nonulosonic Acid (KDN)» *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 747.
- [196] M. Warwel, W. D. Fessner «Indium-Mediated Chain-Extension: An Improved Protocol for the Concise; Diastereospecific Synthesis of KDN and Other Sialic Acids» *Synlett* **2000**, 6, 865.
- [197] D. M. Gordon, G. M. Whitesides «Indium-Mediated Allylation of Unprotected Carbohydrates in Aqueous Media: A Short Synthesis of Sialic Acid » *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 7937.
- [198] J. Gao, R. Härter, D. A. Gordon, G. M. Whitesides «Synthesis of KDO Using Indium-Mediated Allylation of 2,3:4,5-Di-*O*-isopropylidene-D-arabinose in Aqueous Media» *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 3714.
- [199] A. F. Holleman, E. Wiberg «Lehrbuch der anorganischen Chemie» Walter de Gruyter: Berlin , New York **1985**, 890.
- [200] S. K. Choi, S. Lee, G. M. Whitesides «Synthesis of C-5 Analogs of *N*-Acetylneuraminic Acid via Indium-Mediated Allylation of *N*-Substituted 2-Amino-2-deoxymannose» *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 8739.
- [201] G. Jander, E. Blasius «Lehrbuch der analytischen und präparativen anorganischen Chemie» Hirzel: Stuttgart **1989**, 295.
- [202] L. Gmelin «Gmelins Handbuch der anorganischen Chemie» Verlag Chemie: Berlin **1936**, System-Nr. 37.
- [203] T. H. Chan, Y. Yang, «Indium Mediated Organometallic Reactions in Aqueous Media: The Nature of the Allylindium Intermediate» *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 3229.
- [204] R. H. Prenner, W. H. Binder, W. Schmid «Indium-Assisted Allylation in Carbohydrates Chemistry: A Convenient Route to D-*glycero*-L-*galacto*-Heptose» *Liebigs Ann.* **1994**, 73.
- [205] J. Mulzer «Die Cram'sche Regel» *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1984**, 96,16.
- [206] M. T. Reetz «Chelat- oder Nicht-Chelat-Kontrolle bei Additionsreaktionen von chiralen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Alkoxy-carbonyl-Verbindungen» *Angew. Chem.* **1984**, 96, 542.
- [207] J. M. Fleischer, A. J. Gushurst, W. L. Jorgensen «Computer Assisted Mechanistic Evaluations of Organic Reactions. Diastereoselektive Addition: Cram's rule» *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 490.

- [208] W. H. Binder, R. H. Prenner, W. Schmid «Indium-Mediated Allylation of Aldehydes: A Convenient Route to 2-Deoxy and 2,6-Dideoxy Carbohydrates» *Tetrahedron* **1994**, 50, 749.
- [209] L. A. Paquette, T. M. Mitzel «Chelation Control Associated with Organometallic Addition Reactions in Water. The High Stereoselectivity Offered by  $\alpha$ - and  $\beta$ -Hydroxyl Substituents Obviates the Need for Protecting Groups» *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 6863.
- [210] Z. Györgydeák, I. F. Pelyvás «Monosaccharide Sugars: Chemical Synthesis by Chain Elongation, Degradation and Epimerization» Academic Press: San Diego, CA, **1998**.
- [211] M. Jorgensen, E. H. Iversen, R. Madsen «A Convenient Route to Higher Sugars by Two-Carbon Chain Elongation Using Wittig/Dihydroxylation Reactions» *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 4625.
- [212] S. J. Angyal *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1991**, 49, 19.
- [213] J. Villeras, M. Rambaud «Wittig-Horner Reaction in Heterogeneous Media; 1. An Easy Synthesis of Ethyl  $\alpha$ -Hydroxymethylacrylate and Ethyl  $\alpha$ -Halomethylacrylates. Use of Formaldehyde in Water» *Synthesis* **1982**, 924.
- [214] J. Villeras, M. Rambaud «Ethyl  $\alpha$ -(Hydroxymethyl)acrylate (2-Propenoic acid, 2-(hydroxymethyl)-ethyl ester)» *Org. Synth.* **1988**, 66, 220.
- [215] T. Tanase, T. Takei, M. Hidai, S. Yano «Substrate-dependent chemoselective aldose-aldose and aldose-ketose isomerization of calcium and monosamines» *Carbohydr. Res.* **2001**, 333, 303.
- [216] L. Hušáková, E. Herkommerová-Rajnochová, T. Semeňuk, M. Kuzma, J. Rauvolfová, V. Přikrylová, R. Ettrich, O. Plihal, K. Bezouška, V. Křen «Enzymatic Discrimination of 2-Acetamido-2-deoxy-D-mannopyranose-Containing Disaccharides Using  $\beta$ -N-Acetylhexosaminidases» *Adv. Synth. Catal.* **2003**, 345, 735.
- [217] D. Schanzenbach, C. M. Matern, M. G. Peter «Cleavage of Chitin by Means of Sulfuric Acid/Acetic Anhydrid» *Chitin Handbook* R. A. A. Muzzarelli, M.G. Peter eds. European Chitin Society **1997**.
- [218] A. Lubineau, Y. Queneau «Aqueous Cycloadditions Using Glyco-Organic Substrates. 1. Stereochemical Course of the Reaction» *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 1001.
- [219] V. Pozsgay, N. E. Vieira, A. Yergey «A Method for Bioconjugation of Carbohydrates Using Diels-Alder Cycloaddition» *Org. Lett.* **2002**, 4, 3191.

- [220] M. A. Ceschi, C. Petzhold, R. A. Schenato «Indium Mediated Isoprenylation of Carbonyl Compounds with 2-Bromomethyl-1,3-butadiene: A short Synthesis of ( $\pm$ )-Ipsenol» *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, *14*, 759.
- [221] R. L. Frank, R. P. Seven «Isoprene Cyclic Sulfone» *Org. Synth. Coll. Vol. 3* **1955**, 501.
- [222] R. C. Krug, T. F. Yen «Unsaturated Cyclic Sulfones. 3-Bromomethyl-2,5-dihydrothiophene 1,1-Dioxide» *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 1082.
- [223] E. Betteli, P. Cherubini, P. D'Andrea, P. Passacantilli, G. Piacatelli «Mercuration-Reductive Demercuration of Glycals: a Mild and Convenient Entry to 2-Deoxy-Sugars» *Tetrahedron* **1998**, *54*, 6011.
- [224] R. R. Schmidt «Trends in Synthetic Carbohydrate Chemistry» D. Horton, L. D. Hawkins, G. J. McGarvey, Eds; ASC Symposium Series, 386, *Am. Chem. Soc.* Washington DC **1989**, 182.
- [225] B. Capon «Mechanism in Carbohydrate Chemistry» *Chem. Rev.* **1969**, *69*, 407.
- [226] C. S. Hudson, H. S. Isbell «Relations Between Rotary Power and Structure in The Sugar Group. XIX. Improvements in the Synthesis of Aldonic Acids» *J. Am. Chem. Soc.* **1929**, *51*, 2225.
- [227] H. S. Isbell, C. S. Hudson «The oxidation of  $\alpha$ - and  $\beta$ -glucose and a study of the isomeric forms of sugar in solution» *Bur. Stand. J. Res.* **1933**, *10*, 337.
- [228] A. J. Kirby «The Anomeric Effect and Related Stereoelectronic Effects at Oxygen» Springer: Berlin **1983**.
- [229] A. P. Rauter, J. Figueiredo, M. Ismael, T. Canda, J. Font, M. Figueiredo «Efficient Synthesis of  $\alpha,\beta$ -Unsaturated  $\gamma$ -Lactones Linked to Sugars» *Tetrahedron Asymm.* **2001**, *12*, 1131.
- [230] M. Marek, J. Jarý «Synthesis of Methyl 2,6-Dideoxy- $\alpha$ -D-xylo- and  $\alpha$ -D-lyxo-hexapyranoside» *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1980**, *45*, 2979.
- [231] L. K. Mahal, K. J. Yarem, C. R. Bertozzi «Engineering chemical reactivity on cell surfaces through oligosaccharids biosynthesis» *Science* **1997**, *276*, 1125.
- [232] L. K. Mahal, C. R. Bertozzi «Engineered cell surfaces: Fertile ground for molecular landscaping» *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 415.
- [233] M. Herrmann, C. W. Wunderlich, P. Stehling, W. Reutter, M Pawlita «Consequences of a subtle sialic acid modification on the murine polyomavirus receptor» *J. Virol.* **1997**, *71*, 5922.
- [234] R. F. Service «Making cells selectivity sticky» *Science* **1996**, *273*, 1493.

- [235] J. R. Wieser, A. Heisner, P. Stehling, F. Oesch, W. Reutter «In vivo modulated N-acyl side chain of *N*-acetylneuraminic acid modulates cell contact-dependent inhibition of growth» *FEBS Lett.* **1996**, 395, 170.
- [236] U. Schumacher, D. Mukhtar, P. Stehling, W. Reutter «Is the lectin binding pattern of human breast and colon cancer cells influenced by modulation of sialic acid metabolism?» *Histochem. Cell. Biol.* **1996**, 106, 599.
- [237] O. T. Keppler, P. Stehling, M. Herrmann, H. Kayser, D. Grunow, W. Reutter, M. Pawlita «Biosynthetic modulation of sialic acid-dependent virus-receptor interactions of two primate polyoma viruses» *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 1308.
- [238] O. T. Keppler, M. Herrmann, C. W. von der Lieth, P. Stehling, W. Reutter, M. Pawlita «Elongation of the *N*-Acyl Side Chain of Sialic Acid in MDCK II Cells Inhibits Influenza A Virus Infection» *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, 253, 437.
- [239] C. Schmidt, C. Ohleneyer, H. Kettermann, W. Reutter, R. Horstkorte «Incorporation of *N*-Propanoylneuraminic acid leads to calcium oscillation in oligodendrocytes upon the application of GABA» *FEBS Lett.* **2000**, 478, 276.
- [240] A. J. Humphrey, C. Fremann, P. Critchley, Y. Malykh, R. Schauer, T. D. H. Bugg «Biological Properties of *N*-Acyl and *N*-Haloacetyl Neuraminic Acids: Processing by Enzymes of Sialic Acid Metabolism, and Interaction with Influenza Virus» *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10, 3175.
- [241] H. Kayser, R. Zeitler, C. Kannicht, D. Grunow, R. Nuck, W. Reutter «Biosynthesis of a nonphysiological sialic acid in different rat organs, using *N*-Propanoyl-D-hexosamines as precursors» *J. Biol. Chem.* **1992**, 267, 16934.
- [242] B. Schilling, S. Gonn, N. M. Samuels, S. P. Gaucher, J. A. Leary, C. R. Bertozzi, B. W. Gibson «Biosynthesis of Sialylated Lipooligosaccharides in *Haemophilus ducreyi* Is Dependent on Exogenous Sialic Acid and Not Mannosamine. Incorporation Studies Using *N*-Acylmannosamine Analogues, *N*-Glycolylneuraminic Acid, and <sup>13</sup>C-Labeled *N*-Acetylneuraminic Acid» *Biochemistry* **2001**, 40, 12666.
- [243] L. R. Mantey, O. T. Keppler, M. Pawlita, W. Reutter, S. Hinderlich «Efficient biochemical engineering of cellular sialic acids using an unphysiological sialic acid precursor in cells lacking UDP-*N*-acetylglucosamine 2-epimerase» *FEBS Lett.* **2001**, 503, 80.
- [244] O. T. Keppler, R. Horstkorte, M. Pawlita, C. Schmidt, W. Reutter «Biochemical engineering of the *N*-acyl side chain of sialic acid: biological implication» *Glycobiology* **2001**, 11, 11R.

- [245] C. Oedkte, R. Brossmer, L. R. Mantey, S. Hinderlich, R. Isecke, W. Reutter, O. Keppler, M. Pawlita «Versatile Biosynthetic Engineering of Sialic Acid in Living Cells Using Synthetic Sialic Acid Analogues» *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 6688.
- [246] S. J. Luchansky, C. R. Bertozzi «Azido Sialic Acids Can Modulate Cell-Surface Interactions» *ChemBioChem* **2004**, 5, 1706.
- [247] J. H. Lee, T. J. Baker, L. K. Mahal, J. Zabener, C. R. Bertozzi, D. F. Wiemer, J. Welsh «Engineering Novel Cell Surface Receptors for Virus-mediated Gene Transfer» *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 21878.
- [248] A. Lubineau, V. Sommé, C. Augé «Sialyltransferase-catalyzed transfer of KDN onto oligosaccharides» *J. Mol. Catal. B: Enzymatic* **1998**, 5, 235.
- [249] T. J. Martin, R. R. Schmidt «Convenient Chemical Synthesis of CMP-*N*-Acetylneuraminate (CMP-Neu5Ac)» *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 1765.
- [250] T. Yoshimo, R. R. Schmidt *Carbohydr. Lett.* **1995**, 1, 329.
- [251] S. Makino, Y. Ueno, M. Ichikawa, Y. Hayakawa, T. Hata «Chemical Synthesis of Cytidine-5'-monophospho-*N*-neuraminic acid (CMP-Neu5Ac)» *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 2775.
- [252] Y. Kajihara, K. Koseki, T. Ebata, H. Kodama, H. Matsushita, H. Hashimoto «Synthesis of a novel CMP-Neu5Ac analogue: [ $\alpha$ -Neu5Ac-(2 $\rightarrow$ 8)-Neu5Ac]» *Carbohydr. Res.* **1994**, 264, C1.
- [253] Y. Hashimoto, T. Honda, S. Ikegami «A Rapid and Efficient Synthesis of 1,2-*trans*- $\beta$ -Linked Glycosides via Benzyl- or Benzoyl-protected Glycopyranosyl Phosphates» *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1989**, 685.
- [254] M. D. Chapell, R. L. Halcomb «Synthesis of CMP-sialic acid conjugates: Substrates for the enzymatic synthesis of natural and designed sialyl oligosaccharides» *Tetrahedron* **1997**, 53, 11109.
- [255] M. D. Chapell, R. L. Halcomb «Mild Oxidation of Cytidine-Sialic Acid Phosphite Derivatives Using Dimethyldioxirane» *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 1.
- [256] Y. Kajihara, T. Ebata, H. Kodama «Synthesis of Immobilized CMP-Sialic Acids and Their Enzymatic Transfer with Sialyltransferase» *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 3166.
- [257] U. Kragl, D. Gygax, O. Ghisalba, C. Wandrey «Enzymatische zweistufige Synthese von *N*-Acetylneuraminsäure im Enzym-Membranreaktor» *Angew. Chem.* **1991**, 103, 854.

- [258] C. Augé, S. David, C. Gautheron, A. Malleron, B. Cavayé «Preparation of six naturally occurring sialic acids with immobilized acylneuraminate pyruvate lyase» *J. Chem.* **1988**, *12*, 733.
- [259] E. S. Simon, M. D. Bednarski, G. M. Whitesides «Synthesis of CMP-NeuAc from *N*-acetylglucosamine: generation of CTP from CMP using adenylate kinase» *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7159.
- [260] W. Fitz, C.-H. Wong «Combined use of subtilisin and *N*-acetylneuraminic acid aldolase for the synthesis of a fluorescent acid» *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 8279.
- [261] L. Halcomb, W. Fitz, C.-H. Wong «Enzymatic synthesis of 7-deoxy-*N*-acetylneuraminic acid and 7-*O*-methyl-*N*-neuraminic acid» *Tetrahedron Asymm.* **1994**, *5*, 2437.
- [262] D. C. M. Kong, M. von Itzstein «The first synthesis of a C-7 nitrogen-containing sialic acid analogue, 5-acetamido-7-azido-3,5,7-trideoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonic acid (7-azido-7-deoxy-Neu5Ac) » *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 957.
- [263] C. Augé, C. Gautheron, S. David, A. Malleron, B. Cavayé, B. Bouxom «Sialyl aldolase in organic synthesis: from the trout egg acid, 3-deoxy- D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonic acid (KDN), to branched-chain higher ketoses as possible new chirons» *Tetrahedron* **1990**, *46*, 201.
- [264] M. A. Sparks, K. W. Williams, C. Likacs, A. Schrell, G. Priebe, A. Spaltenstein, G. M. Whitesides «Synthesis of potential inhibitors of hemagglutination by influenza virus: chemoenzymatic preparation of N-5 analogs of *N*-acetylneuraminic acid» *Tetrahedron* **1993**, *49*, 1.
- [265] P. Zhou, H. M. Salleh, J. F. Honek «Facile chemoenzymatic synthesis of 3-(hydroxymethyl)-6-epicastanospermine» *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 264.
- [266] R. Isecke, R. Brossmer «Synthesis of 5-*N*- and 9-*N*-thioacetylated sialic acids» *Tetrahedron* **1994**, *50*, 7445.
- [267] A. Schrell, G. M. Whitesides «Synthesis of the  $\alpha$ -methyl ketoside of 5-amino neuraminic acid methyl ester and its corresponding 5-myristoyl and 5-cyclopropanoyl derivative» *Liebigs Ann. Chem.* **1990**, 1111.
- [268] C. Augé, B. Bouxom, B. Cavayé, C. Gautheron «Scope and limitations of the aldol condensation catalyzed by immobilized acylneuraminate pyruvate lyase » *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 2217.

- [269] K. Koppert, R. Brossmer «Synthesis of the C-5 homologue of *N*-acetylneuraminic acid by enzymatic chain elongation of 2-C-acetamidomethyl-2-deoxy-D-mannose» *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 8031.
- [270] M. J. Kiefel, J. C. Wilson, S. Benett, , M. Gredley, M. von Itzstein «Synthesis and Evaluation of C-9 Modified *N*-Acetylneuraminic Acid Derivatives as Substrates for *N*-Acetylneuraminic Acid Aldolase» *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, 8, 657.
- [271] U. Kragl, A. Gödde, C. Wandrey, N. Lubin, C. Augé «New Synthetic Application of Sialic Acid Aldolase, a Useful Catalyst for KDO Synthesis. Relation between Substrate Conformation and Enzyme Stereoselectivity» *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1994**, 119.
- [272] H. Yu, X. Chen «Aldolase-Catalyzed Synthesis of  $\beta$ -D-Gal-(1 $\rightarrow$ 9)-D-KDN: A novel Acceptor for Sialyltransferases» *Org. Lett.* **2006**, 8, 2393.
- [273] P. W. Annunziato, L. F. Wright, W. F. Van, R. P. Silver «Nucleotide sequence and new genetic analysis of the *neuD* and *neuB* genes in region 2 of the polysialic acid gene cluster of *Escherichia coli* K1» *J. Bacteriol.* **1995**, 177, 312.
- [274] D. Linton, A. V. Karlyshev, P. G. Hitchen, H. R. Morris, A. Dell, N. A. Gregson, B. W. Wren «Multiple *N*-acetylneuraminic acid synthase (*neuB*) genes in *Campylobacter jejuni*: identification and characterization of the gene involved in the sialylation of lipo-oligosaccharide» *Mol. Microbiol.* **2000**, 35, 1120.
- [275] W. F. Van, J. J. Tavaréz, J. Crowley, E. Vimr, R. P. Silver «Purification and characterisation of the *Escherichia coli* K1 *neuB* gene product *N*-acetylneuraminic acid synthetase» *Glycobiology* **1997**, 5, 697.
- [276] A. K. Sundaram, L. Pitts, K. Mihammad, J. Wu, M. Betenbaugh, R. W. Woodard, W. F. Vann «Characterization of *N*-acetylneuraminic acid synthase isoenzyme 1 from *Campylobacter jejuni*» *Biochem J.* **2004**, 383, 83.
- [277] E. Komaki, Y. Ohta, Y. Tsukada «Purification of *N*-acetylneuraminic acid synthase from *Escherichia coli* K1-M12» *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1997**, 61, 2046.
- [278] J. Gunawan, D. Simard, M. Gilbert, A. L. Lovering, W. Wakarchuk, M. E. Tanner, N. C. J. Strynadka «Structural and Mechanistic Analysis of Sialic Acid Synthase NeuB from *Neisseria meningitidis* in Complex with  $Mn^{2+}$ , Phosphoenolpyruvate, and *N*-Acetylmannosaminol» *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 3555.
- [279] L. Elling «Glycobiotechnology: enzymes for the synthesis of nucleotide sugars» in *Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology* Vol. 58 (Hrsg.: T. Scheper), Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg **1997**, 89.

- [280] J. Thiem, P. Staiger «Preparative-enzymatic formation of cytidine 5'-monophosphosialate by integrated cytidine 5'-triphosphate regeneration» *Liebigs Ann. Chem.* **1990**, 1101.
- [281] J. Haverkamp, J. M. Beau, R. Schauer «Improved synthesis of CMP-sialates using enzymes from liver and equine submandibular gland» *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.* **1979**, 360, 159.
- [282] L. Warren, R. S. Blacklow «The Biosynthesis of cytidine 5'-monophospho-*N*-acetylneuraminic acid by an enzyme from *Neisseria meningitidis*» *J. Biol. Chem.* **1962**, 237, 3527.
- [283] S. Ganguli, G. Zapata, T. Wallis, C. Reid, W. F. Vann, I. S. Roberts «Molecular modeling cloning and analysis of genes for sialic acid synthesis in *Neisseria meningitidis* group B and purification of the meningococcal CMP-NeuNAc synthetase enzyme» *J. Bacteriol.* **1994**, 176, 4583.
- [284] M. Gilbert, D. C. Watson, W. W. Wakarchuk «Purification and characterization of the recombinant CMP-sialic acid synthetase from *Neisseria meningitidis*» *Biotechnol. Lett.* **1997**, 19, 417.
- [285] M. Gilbert, R. Bayer, A. M. Cunningham, S. Defrees, Y. H. Gao, D. C. Watson, N. M. Young, W. W. Wakarchuk «The synthesis of sialylated oligosaccharides using a CMP-Neu5Ac synthetase/sialyltransferase fusion» *Nature Biotechnol.* **1998**, 16, 769.
- [286] M. V. Tullius, R. S. Munson, J. Wang, B. W. Gibson «Purification, cloning, and expression of a cytidine 5'-monophosphate *N*-acetylneuraminic acid synthetase from *Haemophilus ducreyi*» *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 15373.
- [287] R. F. Haft, M. R. Wessels «Characterization of CMP-*N*-acetylneuraminic acid synthetase of group B streptococci» *J. Bacteriol.* **1994**, 176, 7372.
- [288] R. F. Haft, M. R. Wessels, M. F. Mebane, N. Conaty, C. E. Rubens «Characterization of cpsF and its product CMP-*N*-acetylneuraminic acid synthetase, a group B streptococci enzyme that can function in K1 capsular polysaccharide biosynthesis in *Escherichia coli*» *Mol. Microbiol.* **1996**, 19, 555.
- [289] M. Kittelmann, T. Klein, U. Kragl, C. Wandrey, O. Ghisalba «CMP-*N*-acetylneuraminic acid synthetase from *Escherichia coli*: fermentative production and application for the preparative synthesis of CMP-neuraminic acid» *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1995**, 44, 59.
- [290] S. L. Shames, E. S. Simon, C. W. Christopher, W. Schmid, G. M. Whitesides, L. L. Yang «CMP-*N*-acetylneuraminic acid synthetase of *Escherichia coli*: high level



- expression, purification and use in the enzymatic synthesis of CMP-*N*-acetylneuraminic acid and CMP-neuraminic acid derivatives» *Glycobiology* **1991**, *1*, 187.
- [291] G.-J. Shen, J. L.-C. Liu, C.-H. Wong «Cloning and overexpression of tagged CMP-*N*-acetylneuraminic acid synthetase of *E. coli* using a lambda system and application of the enzyme to the synthesis of CMP-*N*-acetylneuraminic acid» *Biocatalysis* **1992**, *6*, 31.
- [292] C. Augé, C. Gautheron «An efficient synthesis of cytidine monophospho-sialic acid with four immobilized enzymes» *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 789.
- [293] T. Terada, K. Kitajima, S. Inoue, F. Koppert, R. Brossmer, Y. Inoue «Substrate specificity of rainbow trout testis CMP-3-deoxy-D-glycero-D-galacto-nonulosonic acid (CMP-Kdn) synthetase: kinetic studies of the reaction of natural and synthetic analogues of nonulosonic acid catalyzed by CMP-Kdn synthetase» *Eur. J. Biochem.* **1996**, *236*, 852.
- [294] H. J. Gross, R. Brossmer «Enzymatic transfer of sialic acid modified at C-5 employing four different sialyltransferases» *Glycoconjugate J.* **1995**, *12*, 739.
- [295] O. Blixt, J. C. Paulson «Biocatalytic Preparation of N-Glycolylneuraminic Acid, Deaminoneuraminic acid (KDN) and 9-Azido-9-deoxysialic Acid Oligosaccharides» *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 687.
- [296] U. Kragl, A. Gödde, C. Wandrey «Repetitive batch as an efficient method for preparative scale enzymic synthesis of 5-azido-neuraminic acid and <sup>15</sup>N-L-Glutamic acid» *Tetrahedron Asym.* **1993**, *4*, 1194.
- [297] C. C. Lin, C. H. Lin, C.-H. Wong «Sialic acid aldolase-catalyzed condensation of pyruvate and N-substituted mannosamine: A useful method for the synthesis of N-substituted sialic acid» *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 2649.
- [298] G. Fluoret, W. Cole «17-Aminoacyloamido-5-androsten-3 $\beta$ -ols» *J. Med. Chem.* **1968**, *11*, 880.
- [299] A. Reeve, C. A. Townsend «Inhibitors of an AdoMet-Dependent 3-Amino-3-Carboxypropyl Transferase and their Use as Ligands for Protein Affinity Chromatography» *Tetrahedron* **1998**, *54*, 15959.
- [300] E. Saxon, S. J. Luchansky, H. C. Hang, C. Yum S. C. Lee, C. R. Bertozzi «Investigating Cellular Metabolism of Synthetic Azidosugars with the Staudinger Ligation» *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14893.

- [301] T. Sugai, A. Kuboki, S. Hiramatsu, H. Okazaki, H. Ohta «Improved Enzymatic Procedure for a Preparative-Scale Synthesis of Sialic Acid and KDN» *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1995**, 68, 3581.
- [302] W.-Y. Wu, B. Jin, D. C. M. Kong, M. von Itzstein «A facile synthesis of a useful 5-*N*-substituted-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulosonic acid from 2-acetamido-2-deoxy-D-glucose» *Carbohydr. Res.* **1997**, 300, 171.
- [303] G. B. Kok, M. Cambell, B. L. Mackey, M. von Itzstein «Synthesis of C-3 nitrogen-containing derivatives of *N*-acetyl- $\alpha,\beta$ -mannosamine as substrates for *N*-acetylneuraminic acid aldolase» *Carbohydr. Res.* **2001**, 332, 133.
- [304] Y. Ali, A. C. Richardson «The reduction of azides with sodium borohydride: a convenient synthesis of methyl 2-acetamido-4,6-*O*-benzylidene-2-deoxy- $\alpha$ -D-allopyranoside» *Carbohydr. Res.* **1967**, 5, 441.
- [305] D. H. Buss, L. Hugh, C. Richardson «Some Ring-opening Reactions of 2,3-Epimino-derivatives of Pyranosides» *J. Chem. Soc.* **1963**, 2736.
- [306] M. Izumi, G. J. Shen, S. Wacowich-Sgarbi, T. Nakatani, O. Plettenburg, C.-H. Wong «Microbial Glycosyltransferases for Carbohydrate Synthesis:  $\alpha$ -2,3-Sialyltransferase from *Neisseria gonorrhoeae*» *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 10909.
- [307] Y. Song, K. Kitajima, S. Inoue «Isolation and structural elucidation of a novel type of ganglioside, deaminated neuraminic acid (KDN)-containing glycosphingolipid, from rainbow trout sperm. The first example of the natural occurrence of KDN-ganglioside, (KDN)GM» *J. Biol. Chem.* **1991**, 266, 21929.
- [308] G. Strecker, J.-M. Wieruszeski, J.-C. Michalski, C. Alonso, B. Boilly, J. Montreuil «Characterization of Le(x), Le(y) and Le(y) antigen determinants in KDN-containing *O*-linked glycan chains from *Pleurodeles* jelly coat eggs» *FEBS Lett.* **1992**, 298, 39.
- [309] J. A. Yuziuk, H. Nakagawa, A. Hasegawa, M. Kiso, S.-C. Li, Y.-T. Li «Occurrence of Two Sialidases, KDN-Sialidase and NeuAc-Sialidase in the Starfish, *Asterina pectinifera*» *Glycobiology* **1994**, 4, 713.
- [310] Y.-T. Li, N. J. Pavlova, K. Noda, A. Hasegawa, M. Kiso, J. A. Yuziuk, S.-C. Li, H. Nakagawa «A KDN-Cleaving Enzyme from the Oyster, *Crassostrea Virginica*» *Glycobiology* **1994**, 4, 713.
- [311] M. Kimura, Y. Hama, T. Sumi, M. Asakawa, B. N. Narashiga Roa, A. P. Horne, S.-C. Li, Y.-T. Li, H. Nakagawa «Characterization of a deaminated neuraminic acid-containing glycoprotein from the skin mucus of the loach, *Misgurnus anguillicaudatus*» *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 32138.

- [312] C. Augé, C. Gautheron «The use of an immobilized aldolase in the first synthesis of a natural deaminated neuraminic acid» *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 859.
- [313] L. S. Jeong, R. F. Schinazi, J. W. Beach, H. O. Kim, K. Shanmuganathan, S. Nampali, M. W. Chun, W.-K. Chung, B. G. Choi, C. K. Chu «Structure-activity Relationship of  $\beta$ -D-(2*S*,5*R*)- and  $\alpha$ -D-(2*S*,5*S*)-1,3-oxathiolanyl Nucleosides as Potential Anti-HIV Agents» *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 2627.
- [314] D. C. M. Kong, M. von Itzstein «The chemoenzymatic synthesis of 9-substituted 3,9-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulosonic acids» *Carbohydr. Res.* **1997**, 305, 323.
- [315] R. U. Lemieux, H. Driguez «The Chemical Synthesis of 2-Acetamido-2-deoxy-4-*O*-( $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-3-*O*-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-D-glucose. The Lewis a Blood-Group Antigenic Determinant» *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 4063.
- [316] D. D. Reynolds, W. L. Evans «The Synthesis of Certain Oligosaccharide Acetates in the Mannose Series» *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, 62, 66.
- [317] V. Wittmann, D. Lennartz «Copper(II)-Mediated Activation of Sugar Oxazolines: Mild and Efficient Synthesis of  $\beta$ -Glycosides of *N*-Acetylglycosamine» *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 1363.
- [318] R. Thomson, M. von Itzstein «Synthesis of 4-substituted-2-acetamido-2,4-dideoxy-mannopyranoses using 1,6-anhydro sugar chemistry» *Carbohydr. Res.* **1995**, 274, 29.
- [319] H. O. Kim, S. K. Ahn, A. J. Alves, J. W. Beach, L.S. Jeong, B. G. Choi, P. V. Roey, R. F. Shinazi, C. K. Chu «Asymmetric Synthesis of 1,3-Dioxolane-Pyrimidine Nucleosides and Their Anti-HIV Activity» *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 1987.
- [320] P. L. Durette, T. Y. Chen «Synthesis of a 4-*O*- $\alpha$ -D-mannopyranosyl-D-mannopyranose and its benzyl 1-thio- $\alpha$ -D-glycoside» *Carbohydr. Res.* **1978**, 65, 314.
- [321] M. L. Hayes, N. J. Pennings, A. S. Serianni, R. Barker «Epimerization of Aldoases by Molybdate Involving a Novel Rearrangement of the Carbon Skeleton» *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 6764.
- [322] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless «Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions» *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 2004.
- [323] V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless «A stepwise Huisgen cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed regioselective Ligation of azides and terminal alkynes» *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2596.
- [324] W. G. Lewis, L. G. Green, F. Grynszpan, Z. Radic, P. R. Carlier, M. G. Finn, K. B. Sharpless «Click chemistry in situ: acetylcholinesterase as a reaction vessel for the

- selective assembly of a femtomolar inhibitor from an array of building blocks» *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1053.
- [325] Q. Wang, T.R. Chan, R. Hilgraf, R. V. V. Fokin, K. B. Sharpless, M. G. Finn «Bioconjugation by Copper (I)-catalyzed azide-alkyne [3+2] cycloaddition» *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3192.
- [326] A. E. Speers, G. C. Adam, B. F. Cravatt «Activity-based protein profiling in vivo using a Copper (I)-catalyzed azide-alkyne [3+2] cycloaddition» *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4686.
- [327] A. Deiters, T. A. Cropp, M. Mukherji, J. W. Chin, J. C. Anderson, P. G. Schultz «Adding Amino acids with novel reactivity to the genetic code of *Saccharomyces cerevisiae*» *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11782.
- [328] A. J. Link, D. A. Tirell «Cell surface labelling of *Escherichia coli* via Copper (I)-catalyzed [3+2] cycloaddition» *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11164.
- [329] T. S. Seo, Z. LI, H. Ruparel, J. Ju «Click Chemistry to Construct Fluorescent Oligonucleotides for DNA Sequencing» *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 609.
- [330] S. Hotha, S. Kashyap «"Click Chemistry" Inspired Synthesis of pseudo-Oligosaccharides and Amino Acids Glycoconjugates» *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 364.
- [331] X.-L. Sun, C. L. Stabaler, C. S. Cazalis, E. L. Chaikof «Carbohydrates and Protein Immobilization onto Sequential Diels-Alder and Azide-Alkyne Cycloadditions» *Bioconjugate Chem.* **2006**, *17*, 52.
- [332] D. D. Díaz, S. Punna, P. Holzer, A. K. McPherson, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, M. G. Finn «Click Chemistry in Material Synthesis. 1. Adhesive Polymers from Copper-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition» *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Sci.* **2004**, *42*, 4392.
- [333] Y. Zhabg, S. Luo, Y. T. Tang, L. Yu. K.-Y. Hou, J.-P. Cheng, X. Zeng, P. G. Wang «Carbohydrate-Protein Interaction by "Clicked" Carbohydrate Self-Assembled Monolayers» *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 2001.
- [334] D. I. Rozkiewicz, D. Janczewski, W. Verboom, B. J. Ravoo, D. N. Reinhoudt «"Click" Chemistry by Microcontact Printing» *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5292.
- [335] P. Garner, W. B. Ho, H. Shin «The Asymmetric Synthesis of (-)-Quinocarcin via 1,3-Dipolar Cycloadditive Strategy» *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10742.
- [336] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal «Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regioselective Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides» *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057.

- [337] B. H. M. Kuipers, S. Groothuys, A. R. Keerweer, P. J. L. M. Quaedflieg, R. H. Blaauw, F. L. van Delft, F. P. J. T. Rutjes «Expedient Synthesis of Triazole-Linked Glycosyl Amino Acids and Peptides» *Org. Lett.* **2004**, 6, 3123.
- [338] K. Sivakumar, F. Xie, B. M. cash, S. Lonag, H. N. Barnhill, Q. Wang «A Fluorogenic 1,3-Dipolar Cycloaddition Reaction of 3-Azidocoumarins and Acetylenes» *Org. Lett.* **2004**, 6, 4603.
- [339] P. Appukkuttan, W. Dehaen, V.-V. Fokin, E. Van der Eycken «A Microwave-Assisted Click Chemistry Synthesis of 1,4-Disubstituted 1,2,3-Triazoles via a Copper(I)-Catalyzed Three-Component Reaction» *Org. Lett.* **2004**, 6, 4223.
- [340] S. Chittaboina, F. Xie, Q. Wang «One-pot synthesis of triazole-linked glycoconjugates» *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 2331.
- [341] K. R. Reddy, K. Rajgopal, M. L. Kantam «Copper(II)-Promoted Regioselective Synthesis of 1,4-Disubstituted 1,2,3-Triazoles in Water» *Synlett* **2006**, 6, 957.
- [342] L. Zhao, X. Lu, W. Xu «Palladium(II)-Catalyzed Enyne Coupling Reaction Initiated by Acetoxypalladation of Alkynes and Quenched by Protonolysis of the Carbon-Palladium Bond» *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 4059.
- [343] P. Wu, A. K. Feldman, A. K. Nugent, C. J. Hawker, A. Scheel, B. Voit, J. Pyun, J. M. J. Fréchet, K. B. Sharpless «Efficiency and Fidelity in a Click-chemistry Route to Triazole Dendrimers by the Copper(I)-Catalyzed Ligation of Azides and Alkynes» *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 3928.
- [344] Q. Chen, F. Yang, Y. Du «Synthesis of a C<sub>3</sub>-symmetric (1→6)-N-acetyl-β-D-glucosamin octadecasaccharide using click chemistry» *Carbohydr. Res.* **2005**, 340, 2476.
- [345] N. G. Aher, V. S. Pore «Synthesis of Bile Dimers Linkes with 1,2,3-Triazole ring at C-3, C-11, and C-24 Position» *Synlett* **2005**, 14, 2155.
- [346] F. G. Calo-Flores, J. Isac-García, F. Hernández-Meteo, F. Pérez-Balderas, J. A. Calvo-Asín, E. Sánchez-Vaquero, F. Sanatoyo-González «1,3-Dipolar Cycloadditions as a Tool for the Preparation of Multivalent Structures» *Org. Lett.* **2000**, 2, 2499.
- [347] E. S. Simon, E. J. Toone, G. Ostroff, M. D. Bednarski, G. M. Whitesides «Preparation of cytidine 5'-monophospho-N-acetylneuraminic acid and uridine 5'-diphosphoglucuronic acid; syntheses of α-2,6-sialyllactosamin, α-2,6-sialyllactose, and hyaluronic acid» *Meth. Enzymol.* **1989**, 179, 275.

- [348] T. Endo, S. Koizumi, K. Tabata, A. Ozaki «Large-Scale production of CMP-NeuAc and sialylated oligosaccharides through bacteria coupling» *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2000**, 53, 257.
- [349] T. Hamamoto, S. Takeda, T. Noguchi «Enzymatic Synthesis of Cytidine 5'-Monophospho-*N*-acetylneuraminic Acid» *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2005**, 69, 1944.
- [350] S. David, C. Augé «Immobilized enzymes in preparative carbohydrate chemistry» *Pure Appl. Chem.* **1987**, 59, 1501.
- [351] E. S. Simon, M. D. Bednarski, G. M. Whitesides «Generation of cytidine 5'-triphosphate using adenylate kinase» *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 1123.
- [352] Y. Ichikawa, Y.-C. Lin, D. P. Dumas, G.-J. Chen, E. Garcia-Junceda, M. A. Williams, R. Bayer, C. Ketchman, L. E. Walker, J. C. Paulson, C.-H. Wong «Chemical-enzymatic synthesis and conformational analysis of sialyl Lewis x and derivatives» *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 9283.
- [353] W. B. Turnbull, J. A. Harrison, K. P. Ravindranathan Kartha, S. Schenkman, R. A. Field «Observations on chemical and enzymatic approaches to  $\alpha$ -2,3-sialylated octyl  $\beta$ -lactoside» *Tetrahedron* **2002**, 58, 3207.
- [354] G. Limberg, G. C. Slim, C. A. Compston, P. Stangier, M. M. Palcic, R. H. Furneaux «A new assay for sialyltransferases using fluorescent-labelled acceptors» *Liebigs Ann.* **1996**, 1773.
- [355] Y. Zhang, X. Le, J. Dovichi, C. A. Compston, M. M. Palcic, P. Diedrich, O. Hindsgaul «Monitoring Biosynthetic Transformations of *N*-Acetylglucosamine Using Fluorescently Labeled Oligosaccharides and Capillary Electrophoretic Separation» *Anal. Biochem.* **1995**, 227, 368.
- [356] X. Le, C. Scaman, Y. Zhang, J. Zhang, N. J. Dovichi, O. Hindsgaul, M. M. Palcic «Analysis by capillary electrophoresis-laser-induced fluorescence detection of oligosaccharides produced from enzyme reactions» *J. Chromat. A* **1995**, 716, 215.
- [357] J. Y. Zhao, N. J. Dovichi, O. Hindsgaul, S. Gosselin, M. M. Palcic «Detection of 100 molecules of product formed in a fucosyltransferase reaction» *Glycobiology* **1994**, 4, 239.
- [358] A. R. Yeager, N. S. Finney «Synthesis of Fluorescently Labeled UDP-GlcNAc Analogues and Their Evaluation as Chitin Synthase Substrates» *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 1269.

- [359] J.-L. Reymond, T. Koch, J. Schröder, E. Tierney «A general assay for antibody catalysis using acridone as a fluorescent tag» *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 4251.
- [360] C. F. H. Allen, G. H. W. McKee «Acridone» *Org. Synth. Coll. Vol. II* **1966**, 15.
- [361] T. Faller, K. Hurton, G. Okafo, A. Gribble, P. Camilleri, D. E. Games «A novel acridone derivative for the fluorescence tagging and mass spectrometric sequencing of peptides» *Chem. Commun.* **1997**, 1529.
- [362] R. R. Schmidt «New methods of glycoside and oligosaccharide synthesis – are there alternatives to the Koenigs-Knorr method» *Angew. Chem.* **1986**, 98, 213.
- [363] G. Excoffier, D. Gagnaire, J.-P. Uille «Coupure sélective par l'hydrazine des groupements acétyles anomères de résidus glycosyles acétylés» *Carbohydr. Res.* **1975**, 39, 368.
- [364] L.N. Gastinel «Galactosyltransferases: A Structural Overview of Their Function and Reaction Mechanisms» *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **2001**, 13, 131.
- [365] R. Öhrlein «Glycosyltransferase-catalyzed synthesis of non-natural oligosaccharides» in *Topics in Current Chemistry, Vol. 200* (Hrsg.: W.-D. Fessner), Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, **1998**, 227.
- [366] C.-H. Wong, Y. Ichikawa, T. Krach, C. Gautheron-Le Narvor, D. P. Dumas, G. C. Look «Probing the acceptor specificity of  $\beta$ -1,4-galactosyltransferase for the development of enzymatic synthesis of novel oligosaccharides» *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 8137.
- [367] H. Babad, W. Z. Hassid «UDP-D-galactose: D-glucose  $\beta$ -4-galactosyltransferase from milk» in *Methods in Enzymology Vol. VIII* (Hrsg.: E. F. Neufeld, V. Ginsburg), Academic Press: New York, London, **1966**, 346.
- [368] R. Öhrlein, B. Ernst, E. G. Berger «Galactosylation of non-natural glycosides with human  $\beta$ -D-galactosyltransferases on a preparative scale» *Carbohydr. Res.* **1992**, 236, 335.
- [369] Beyer, Sadler, Rearick, Paulson, Hill in *Advances in Enzymology Vol. 52* (Hrsg.: A. Meister) **1981**, 56.
- [370] Y. Ichikawa, G. C. Look, C.-H. Wong «Enzyme-catalyzed oligosaccharide synthesis» *Anal. Biochem.* **1992**, 202, 215.
- [371] H. Yuasa, O. Hindsgaul, M. M. Palcic «Chemical-enzymatic synthesis of 5'-thio-N-acetylactosamine: the first disaccharide with sulfur in the ring of the nonreducing sugar» *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 5891.

- [372] U. Brodbeck, W. L. Denton, N. Tanahashi, K. E. Ebner «The isolation and identification of the B protein of lactose synthase as  $\alpha$ -lactalbumin» *J. Biol. Chem.* **1967**, 242, 1391.
- [373] O. Tsuruta, G. Shinohara, H. Yasa, H. Hashimoto «UDP-N-acetyl-5-thiogalactosamine is a substrate of lactose synthase» *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 2523.
- [374] U. K. Unverzagt, J. C. Paulson «High-efficiency synthesis of sialyloligosaccharides and sialoglycopeptides» *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 9308.
- [375] H. A. Nunez, R. Barker «The metal ion catalyzed decomposition of nucleoside diphosphate sugars» *Biochem.* **1976**, 15, 3843.
- [376] Y. Ding, M. Fukuda, O. Hindsgaul «Efficient synthesis of 3'-glycosylated LacNAc-based oligosaccharides» *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 1903.
- [377] O. Blixt, T. Norberg «Enzymatic glycosylation of reducing oligosaccharides linked to a solid phase or a lipid via a cleavable squarate linker» *Carbohydr. Res.* **1999**, 319, 80.
- [378] S. Di Virgilio, J. Glushka, K. Moremen, M. Pierce «Enzymatic synthesis of natural and  $^{13}\text{C}$  enriched linear poly-N-acetyllactosamines as ligands for galectin-1» *Glycobiology* **1999**, 9, 353.
- [379] S. M. Steenberger, T. J. Wrona, E. R. Vimr «Functional analysis of the sialyltransferase complexes in Escherichia coli K1 and K92» *J. Bacteriol.* **1992**, 174, 1099.
- [380] T. Yamamoto, M. Nakashizuka, H. Kodama, Y. Kajihara, I. Terada «Purification and characterization of a marine bacterial beta-galactoside alpha 2,6-sialyltransferase from Photobacterium damsela JT0160» *J. Biochem.* **1996**, 120, 104.
- [381] W. W. Wakarchuk, D. Watson, F. St. Michael, J. J. Li, Y. Y. Wu, J. R. Brisson, N. M. Young, M. Gilbert «Dependence of the Bi-functional Nature of a Sialyltransferase from *Neisseria meningitidis* on a Single Amino Acid Substitution» *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 12785.
- [382] M. Gilbert, D. Watson, A. M. Cunningham, M. Jennings, N. M. Young, W. W. Wakarchuk «Cloning of the lipooligosaccharide alpha-2,3-sialyltransferase from the bacterial pathogens *Neisseria meningitidis* and *Neisseria gonorrhoeae*» *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 28271.
- [383] D. W. Hood, A. D. Cox, M. Gilbert, K. Makepeace, S. Walsh, M. E. Deadman, A. Cody, A. Martin, M. Manson, E. K. Schweda, J. R. Brisson, J. C. Richards, E. R.



- Moxon, W. W. Wakarchuk «Identification of a lipopolysaccharide  $\alpha$ -2,3-sialyltransferase from *Haemophilus influenzae*» *Mol. Microbiol.* **2001**, 39, 341.
- [384] J. A. Bozue. M. V. Tillius, J. Wang, B. W. Gibson, R. S. Munson «*Haemophilus ducreyi* Produces a Novel Sialyltransferase» *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 4106.
- [385] M. Gilbert, J. R. Brisson, M. F. Karwasaki, J. Michniewicz, A. M. Cunningham, Y. Y. Wu, N. M. Young, W. W. Wakarchuk «Biosynthesis of Ganglioside in *Campylobacter jejuni* OH4384» *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 3896.
- [386] H. J. Gross, U. Rose, J. M. Krause, J. C. Paulson, R. E. Schmidt, R. E. Freeney, R. Brossmer «Transfer of synthetic sialic acid analogues to *N*- and *O*-linked glycoprotein glycans using four different mammalian sialyltransferases» *Biochem.* **1989**, 28, 7386.
- [387] J. A. L. M. Vandhorst, J. M. Tikkanen, C. H. Krezdorn, M. B. Streiff, E. G. Berger, J. A. Vankuik, J. P. Kamerling, J. F. G. Vliegenthart «Exploring the substrate specificities of  $\alpha$ -2,6 and  $\alpha$ -2,3-sialyltransferases using synthetic acceptor analogues» *Eur. J. Biochem.* **1996**, 242, 674.
- [388] H.-J. Gross, A. Bünsch, J. C. Paulson, R. Brossmer «Activation and transfer of novel synthetic 9-substituted sialic acids» *Eur. J. Biochem.* **1987**, 168, 595.
- [389] J. Weinstein, U. Souza-de-Silva, J. C. Paulson «Sialylation of glycoprotein oligosaccharides *N*-linked to asparagine» *J. Biol. Chem.* **1982**, 257, 13845.
- [390] Y. Ichikawa, G.-J. Chen, C.-H. Wong «Enzyme-catalyzed synthesis of sialyl oligosaccharide with *in situ* regeneration of CMP-sialic acid» *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 4698.
- [391] Y. Ichikawa, L.-C. Liu, G.-J. Chen, C.-H. Wong «A highly efficient multienzyme system for the one-step synthesis of a sialyl trisaccharid: *in situ* generation of sialic acid and *N*-acetylactosamine coupled with regeneration of UDP-glucose, UDP-galactose, and CMP-sialic acid» *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 6300.
- [392] C.-H. Wong, Y. Ichikawa, G.-J. Chen *U.S. Patent 5 278 299* **1994**.
- [393] *Methods of Enzymatic Analysis Vol. VII*, Hrsg.: H. Bergmeyer, VCH **1989**, 499.

# LEBENS LAUF

## DR. PETER UNRUH

### PERSÖNLICHE INFORMATION

---

Familienstand: verheiratet

Staatsangehörigkeit: deutsch

Geburtsdatum: 28.05.1973

Geburtsort: Karaganda (Kasachstan)

### SCHULBILDUNG

---

09/1980 - 06/1983    Grundschule, Karaganda (Kasachstan)

09/1983 - 01/1986    Mittelstufe, Karaganda (Kasachstan)

02/1986 - 06/1986    Förderstufe Schönbergschule, Aschaffenburg

08/1986 - 06/1993    Lichtenberg Gymnasium, Darmstadt

### WEHRERSATZDIENST

---

06/1993 - 09/1994    Zivildienst als Rettungshelfer beim DRK in Seeheim-Jugenheim

### STUDIUM

---

10/1994 - 09/1997    Grundstudium im Studiengang Chemie der Technischen Universität Darmstadt

10/1997 - 04/2000    Hauptstudium im Studiengang Chemie der TU Darmstadt,  
Hauptfach: Organische Chemie,  
Nebenvertiefung: Makromolekulare Chemie

05/2000                Diplomprüfung

10/2000 – 05/2001    Diplomarbeit unter Anleitung von Prof. Dr. W. D. Fessner:  
"Chemo-enzymatische Synthese bi- und tricyclischer  
Kohlenhydrate"

10/2001-04/2007    Dissertation unter Anleitung von Prof. Dr. W.-D. Fessner:  
"Chemo-enzymatischer Aufbau neuartiger Sialokonjugate"

23/04/2007            Promotionsprüfung